Aus dem Pharmakologischen Institut
der Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg
(Direktor: Professor Dr. M. Kochmann)

Zur Frage der herzwirksamen Form des Kalkes

Mit 2 Abbildungen

Habilitationsschrift

Einer Hohen Medizinischen Fakultät Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Konrad Pohle
Assistent am Pharmakologischen Institut

Aus dem Pharmakologischen Institut
der Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg
(Direktor: Professor Dr. M. Kochmann)

Zur Frage der herzwirksamen Form des Kalkes

Mit 2 Abbildungen

Habilitationsschrift

Einer Hohen Medizinischen Fakultät Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Konrad Pohle
Assistent am Pharmakologischen Institut

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Obwohl im allgemeinen die Neigung besteht, alle pharmakologischen Wirkungen des Kalkes unmittelbar als Wirkungen des Ions aufzufassen, so ist doch nicht zu verkennen, daß in manchen Fällen dieser Deutung Schwierigkeiten im Wege stehen.

Bei der Durchströmung von Frosch-, Fisch- und Muschelherzen ist es Mines[1][2][3][4] bereits 1911 aufgefallen, daß Ca sich anders verhielt, als es seinen Ioneneigenschaften entsprach. Mines beschäftigte sich zunächst mit den seltenen Erden und fand, daß ihre dreiwertigen Kationen qualitativ und quantitativ ganz einheitlich aufs Herz wirkten, und zwar genau in der Weise wie es der Einfluß ihrer dreifach positiven Ladung auf die Organgrenzflächen erwarten ließ. Darauf prüfte er dann auch zweiwertige Kationen und hier entdeckte er nun, daß allein Mg eine seiner Ladung entsprechende gleichartige Wirkung aufwies, Ca dagegen nicht, und bei verschiedenen Muscheln, wo Mg ein lebensnotwendiges Element darstellt, war allein Mg durch dreiwertige Kationen in geeigneten Konzentrationen vertretbar, Ca dagegen zeigte gerade entgegengesetzte Eigenschaften, und so hat Mines schon die Vermutung ausgesprochen, daß Ca im vorliegenden Fall nicht unmittelbar als Ion wirksam ist.

Bestätigt wurde dieser erste Befund durch Clark[5]. Er versuchte Froschherzen neu zu beleben, die durch langdauernde Spülung mit Ringerlösung erschöpft worden waren, und dabei stellte er fest, daß neben gewissen Lipoiden hauptsächlich Kalk und höhere Fettsäuren wirksam waren. Eine nachhaltige Erholung trat aber nur ein, wenn diese zwei Stoffe gemeinsam verabreicht wurden, und da sich nun beide bei gleichzeitiger Einwirkung zu unlöslichen Kalkseifen vereinigen, so liegt hier ebenfalls der Schluß nahe, daß es sich nicht um einfache Ionenwirkungen gehandelt hat.

Weiter begründet und ausgebaut wurde diese Auffassung dann vor allem durch Heubner[6][7][8][9][10], welcher gleich an drei verschiedenartigen Beispielen dartun konnte, daß eine Entionisierung des Kalkes nicht unbedingt seine Wirkung beeinträchtigt. Er zeigte mit seinen Mitarbeitern erstens, daß ein mit Ringerlösung gespeistes Froschherz seine Tätigkeit auch dann noch aufrechterhält, wenn man kalkfällende Anionen im Überschuß zusetzt und eine milchige Trübung erzeugt. Ferner wies Heubner nach, daß das nach hohen Kalkgaben auftretende Vergiftungsbild der „Taumellähmung" selbst

[1]) Mines, R.: Il. Physiol. **40**, 327 (1910).
[2]) Mines R.: Ebenda **42**, 251 (1911).
[3]) Mines, R.: Ebenda **42**, 309 (1911).
[4]) Mines, R.: Ebenda **43**, 467 (1912).
[5]) Clark, A.: Ebenda **47**, 66 (1914).
[6]) Heubner, W.: Klin. Wschr. 1923 II, 1603.
[7]) Heubner, W.: Nachr. d. Ges. d. Wiss. Göttingen, math.-physik. Klasse 1924, 1.
[8]) Heubner, W.: Verhdl. Deutsch. Ges. f. Inn. Med. 1924, 52.
[9]) Günther, F. u. Heubner, W.: Klin. Wschr. 1924 I, 789.
[10]) Vergl. auch Nöther, R.: Münch. med. Wschr. 1921 I, 545.

dann noch zustandekommt, wenn man gleichzeitig mit dem Kalk Phosphat einspritzt und schließlich stellte er fest, daß durch Phosphatdarreichung auch die entzündungswidrige Wirkung des Kalkes nicht abgeschwächt, sondern sogar günstig beeinflußt wird.

Auf Grund dieser ganzen Beobachtungen neigt Heubner dazu, auf allen Gebieten neben dem ionalen Kalk auch dem nichtionalen pharmakologische Bedeutung zuzuerkennen und es erhebt sich damit die Frage, wie man sich die Wirkung des nichtionalen Kalkes vorzustellen hat. Da eine nähere Untersuchung der Taumellähmung ergab, daß die Kalkwirkung nicht allein unbeeinflußt bleibt, wenn man gleichzeitig Phosphat zuführt, sondern daß Phosphat die Kalkwirkung sogar steigert, ja da sie am stärksten in Erscheinung trat, wenn man unmittelbar kolloides Calciumphosphat einspritzte, und da auch andere kolloide Stoffe wie $BaSO_4$ und Kieselsäure die gleiche Wirkung zeigten, so lag es sicherlich nahe, dem kolloiden Kalk die Hauptwirkung zuzuschreiben, und das ist die Erklärung, an die Heubner in erster Linie denkt.

Nichtionaler Kalk kommt nun aber im Organismus nicht nur in kolloider Verteilung vor, sondern die Untersuchung des körpereigenen Kalkes hat ergeben, daß es noch eine weitere Zustandsform gibt. Es hat sich herausgestellt, daß es neben der ionalen und der kolloiden Fraktion drittens auch noch komplexen Kalk gibt, welcher molekuldispers in Form löslicher Verbindungen vorliegt, und damit bietet sich eine weitere Möglichkeit Kalkwirkungen zu erklären. Es drängt sich damit die Frage auf, ob unter den mannigfachen Wirkungen, die der Kalk im Körper auszuüben vermag, sich nicht neben solchen des ionalen und solchen des kolloiden Kalkes teilweise auch solche verbergen, die dem Komplexkalk zugerechnet werden müssen, und diese besondere Frage, ob auch der Komplexkalk pharmakologisch wirksam sein kann, ist es, welche im folgenden für eine der Hauptwirkungen des Kalkes, nämlich seinen Einfluß auf das Herz, näher erörtert werden soll.

Es ist klar, daß jede derartige Betrachtung ausgehen muß von den allgemeinen Eigenschaften und chemischen Beziehungen der drei verschiedenen Kalkformen und daß soll hier in der Weise geschehen, daß ein Überblick über die einschlägigen Arbeiten an den Anfang gestellt wird. Einzelheiten sind aus einer zusammenfassenden Darstellung von Klinke[11]) zu entnehmen, in der die Literatur bis 1927 berücksichtigt ist.

Die Frage nach der Natur des Blutkalkes nahm ihren Ausgang von der Erkenntnis, daß das Serum auffällig kalkreich ist. Obwohl zwei kalkfällende Anionen, Carbonat und Phosphat, zugegen sind, vermag das Serum bekanntlich 12 mg % in Lösung zu halten und diese Tatsache drängte zunächst zu der Feststellung, wieviel ionaler Kalk eigentlich im Höchstfall neben diesen zwei Anionen des Serums im echten Lösungsgleichgewicht bestehen kann.

Als erste haben Rona und Takahashi[12]) versucht, diese Sättigungsgrenze zu berechnen und zwar aus dem Carbonatgehalt. Sie

---

[11]) Klinke, K.: Ergebnisse d. Phys. **26**, 235 (1928).

verwandten dazu eine Formel, welche gestattet, den Wert mit Hilfe einer besonderen Konstante aus dem H- und dem HCO_3-Gehalt des Serums zu bestimmen, und sie fanden, daß bestenfalls 2,5 mg % Ca sich mit dem Carbonat im Lösungsgleichgewicht halten können, daß also das Serum um ein Vielfaches mehr Ca enthält, als den Lösungsbedingungen entspricht. Zu einem ähnlichen Wert gelangten Kugelmaß und Shohl[13]), sie zogen neben dem Carbonat noch das Phosphat in ihre Berechnungen ein.

Eine Nachprüfung erfuhren diese beiden ersten Arbeiten durch Holt[14])[15]), Hastings[16])[17])[18]) sowie ihre Mitarbeiter. Sie arbeiteten nicht mit den alten Dissoziationskonstanten, die nur in idealer Lösung Gültigkeit besitzen, sondern sie berücksichtigten auch die Aktivität der Lösung. Unter Verwendung der von Bjerrum, von Debye, Hückel u. a. entwickelten neuen Formeln haben sie die Löslichkeitsgrenze des Ca nochmals nachbestimmt, und sie kommen dabei zu einem Wert, der wohl als endgültig angesehen werden darf. Er liegt nicht wesentlich höher als die Ronasche Zahl.

Mit dem Nachweis, daß das Serum 10 mg % mehr Ca beherbergt als theoretisch der Sättigung entspricht, erhob sich die Frage nach den Zustandsbedingungen des Überschusses. Zunächst wurde daran gedacht, daß der Mehrgehalt an Eiweiß gebunden sein könnte, und in der Tat konnten Rona und Takahashi[12]) dartun, daß mindestens ein Teil in solcher Bindung steht, sie fanden nämlich, daß das Ca sich bei Kompensationsdialyse ungefähr nach dem Donnan-Gleichgewicht einstellt. Die genaue Menge des eiweißgebundenen Kalkes ist aber nach diesem Verfahren nicht ohne weiteres festzustellen, da sie von vielen Nebenumständen[19])[20])[21]) abhängt. Erst Cameron und Moorhouse[22]) gelang diese Bestimmung. Sie verwandten die Kompensationsdialyse in der Weise, daß sie Liquor als Außenflüssigkeit wählten, wobei nach Mestrezat[23]) keine Verschiebungen zwischen den Kalkfraktionen des Serums zu befürchten sind und es ergab sich dabei, daß nur etwa die Hälfte des Kalküberschusses, etwa 5 mg %, in Eiweißbindung steht. Bei Anwendung der Ultrafiltration[24])[25]) wurde diese Zahl bestätigt.

---

[12]) Rona, P. u. Takahashi, D.: Biochem. Z. **49**, 370 (1913).
[13]) Kugelmaß, N. u. A. Shohl: J. of biol. Chem. **58**, 649 (1923).
[14]) Holt, E., la Mer, V. u. B. Chown: Ebenda **64**, 509 (1925).
[15]) Holt, E., la Mer, V. u. B. Chown: Ebenda **64**, 567 (1925).
[16]) Hastings, B., Murray, D. u. J. Sendroy: Ebenda **71**, 723 (1926).
[17]) Hastings, B. u. J. Sendroy: Ebenda **71**, 783 (1926).
[18]) Hastings, B. u. J. Sendroy: Ebenda **71**, 797 (1926).
[19]) Rona, P. u. H. Petow: Biochem. Z. **137**, 356 (1923).
[20]) Brehme, Th. u. P. György: Ebenda **157**, 243 (1925).
[21]) Loeb, R. u. E. Nichols: J. of biol. Chem. **72**, 687 (1927).
[22]) Cameron, H. u. V. Moorhouse: Ebenda **63**, 687 (1925).
[23]) Mestrezat, W.: Vortrag, XII. Intern. Phys. Kongr. Stockholm 1926.
[24]) Neuhausen, B. u. J. Pinkus: J. of biol. Chem. **57**, 99 (1923).
[25]) Updegraff, H., D. Greenberg, u. G. Clark: Ebenda **71**, 87 (1926).

Um für den Restkalk die Frage der Zustandsform zu lösen, wurde von Holt, laMer und Chown[14])[15]) ein anderer Weg beschritten. Sie nahmen eine Übersättigung an, und tatsächlich ließen ältere Befunde[26])[27])[28]) die Beständigkeit dieses Zustandes an sich als möglich erscheinen. Eine scheinbar unmittelbare Bestätigung erhielt ihre Annahme aber vor allem durch eigene Versuche sowie durch Mond und Netter[29]). Sie konnten nachweisen, daß beim Ausschütteln mit festem $CaHPO_4$ bzw. $Ca_3(PO_4)_2$ das Serum den größten Teil seines Kalküberschusses abgibt, und es lag sicherlich nahe, diesen Befund mit dem Animpfen einer übersättigten Lösung zunächst gleichzustellen.

Sehr bald erfuhren ihre Befunde aber eine andere Deutung. Hastings[16]) konnte zeigen, daß erstens nur Kalkphosphat, nicht Carbonat, die ausfällende Wirkung besitzt, obwohl beim Vorhandensein einer Übersättigung nach Carbonat eigentlich die gleiche Fällung eintreten sollte. Zweitens wurde von Klinke[11]) und Hastings[17])[18]) erkannt, daß der Phosphatniederschlag nicht aus reinem $Ca_3(PO_4)_2$ besteht, was bei der Einstellung eines einfachen Lösungsgleichgewichtes eigentlich zu fordern ist, und schließlich wurde von Klinke[30]) nachgewiesen, daß Ausfrieren bis unter den eutektischen Punkt weder im Serum noch im Serumultrafiltrat zur Einstellung des berechneten Lösungsgleichgewichtes führt. Das Serum besitzt in entscheidenden Punkten also nicht die Eigenschaften einer übersättigten Lösung, und so mußte nach einer anderen Erklärung gesucht werden.

Greenwald[31]) wies hier den Weg. Er fand, daß ein aus Serum gewonnenes Dialysat nach Ansäuern und Aufkochen bedeutend weniger Ca in Lösung zu halten vermag wie vorher. Daraus schloß er, daß der Kalküberschuß überhaupt nicht ionisiert, sondern in Form einer schwachdissoziierten, leicht zerstörbaren Verbindung zugegen ist, und dies wurde von Klinke[30]) bestätigt. Ihm gelang der Nachweis, daß es sich beim Holtschen Schüttelversuch gar nicht um die Einstellung eines Lösungsgleichgewichtes handelt, sondern um einen Adsorptionsvorgang. Er konnte zeigen, daß genau in der gleichen Weise wie $Ca_3(PO_4)_2$ auch andere Adsorbentien, z. B. $Al(OH)_3$, $BaSO_4$ und $MgNH_4PO_4$ den Serumkalk beim Ausschütteln niederzuschlagen vermögen, und diese Versuche wurden von Benjamin und Heß[32]) mit gleichem Erfolg wiederholt, und Bedenken, die von Kleimann[33]) geäußert worden sind, vermochte Klinke zu entkräften. Da es sich um positive Adsorbentien handelt, so kommt er zu dem Schluß, daß der umstrittene Kalküberschuß in Kom-

---

[26]) Jendrassik, L. u. E. Moser: Biochem. Z. **175**, 461 (1926).
[27]) Maiweg, H.: Ebenda **134**, 301 (1922).
[28]) Dolhaine, H.: Ebenda **178**, 233 (1926).
[29]) Mond, R. u. H. Netter: Pflügers Arch. **212**, 558 (1926).
[30]) Klinke, K.: Biochem. Z. **213**, 177 (1929).
[31]) Greenwald, J.: J. of biol. Chem. **67**, 35 (1926).
[32]) Benjamin, H. u. A. Heß: Ebenda **100**, 27 (1932).
[33]) Kleinmann, H.: Biochem. Z. **196**, 98 (1928).

plexbindung zugegen ist, und tatsächlich fanden Bernhard und Beaver[34]), daß bei der Elektrodialyse des Serums ein Teil des Ca an die Anode wandert. Außerdem ist es Corten[35])[36]) gelungen, ein Verfahren auszuarbeiten, welches gestattet, die Ca-Ionenkonzentration des Serums einwandfrei elektrometrisch zu bestimmen, und er ermittelte dabei Werte, die fast genau der berechneten Sättigung entsprachen.

Aus der gegebenen Darstellung folgt, daß wir im ganzen drei Kalkfraktionen im Blute zu unterscheiden haben. Die erste besteht aus dem ionisierten Kalk und beläuft sich auf 2,5—3 mg %. Die zweite Fraktion wird gebildet von löslichen Komplexverbindungen. Über ihre Natur ist nicht viel bekannt, und so läßt sich vorläufig auch nicht entscheiden, ob die Fraktion als einheitlich angesehen werden kann. Insgesamt befinden sich etwa 5 mg % in dieser Form. Die dritte Kalkfraktion umfaßt den eiweißgebundenen Rest, er ist auf nochmal 5 mg % zu veranschlagen. Klinke hat die wichtige Feststellung gemacht, daß dieser Eiweißkalk durch Ausschütteln mit $Al(OH)_3$ niedergeschlagen werden kann; desgleichen gelang es Benjamin und Heß mit $BaSO_4$ regelmäßige Fällungen zu erzielen, und so wird man schließen dürfen, daß auch die dritte Fraktion aus Komplexkalk besteht. Bei der Wasserstoffzahl des Blutes und dem isoëlektrischen Punkt der Eiweißkörper ist aber natürlich nicht auszuschließen, daß in geringer Menge salzartige Verbindungen auch mit dem ionisierten Kalk vorkommen.

Zunächst galt die Unterscheidung von Komplex und Ion nur fürs Blut. Ausgedehnte Untersuchungen haben aber bald gezeigt, daß mit Ausnahme des Harns alle anderen Körperflüssigkeiten ähnliche Verhältnisse aufweisen. Für Lymphe[37])[38]), Liquor[22])[23])[39]), Speichel[40]), Milch[11])[41]) und Galle[11])[42]) ist übereinstimmend festgestellt worden, daß überall die Menge des gelösten Kalkes den ionisierten Anteil weit übertrifft, daß man also berechtigt ist, in allen diesen Flüssigkeiten Komplexkalk anzunehmen, und da aus den Schüttelversuchen von Klinke hervorgeht, daß der Komplex eine ausgesprochene Affinität zum Serumeiweiß besitzt, so darf man seine Anwesenheit wohl nahezu mit Sicherheit auch in den Geweben voraussetzen, denn es ist kaum anzunehmen, daß der Komplex zwischen den Eiweißkörpern des Blutes und denen der Organe einen grundsätzlichen Unterschied macht. Da er überall in der umspülenden Flüssigkeit vorhanden ist, wird er sich gegenüber den einzelnen Geweben genau so in bestimmten Phasengleichgewichten einstellen wie gegenüber dem Bluteiweiß.

---

[34]) Bernhard, A. u. J. Beaver: J. of biol. Chem. **69,** 113 (1926).
[35]) Corten, M.: Zbl. f. allg. Path. u. pathol. Anat. **44,** 144 (1928).
[36]) Corten, M. u. J. Estermann: Z. physik. Chem. **136,** 338 (1928).
[37]) Malmberg, N.: Acta paediatr. **6,** 241 (1926).
[38]) v. Beznak, A.: Biochem. Z. **225,** 305 (1930).
[39]) Brucke, K.: Dtsch. Arch. f. klin. Med. **148,** 183 (1925).
[40]) Becks, H.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **26,** 93 (1928).
[41]) György, P.: Biochem. Z. **142,** 1 (1923).
[42]) Tschopp, E.: Schweiz. Med. Wschr. **57,** 1065 (1927).

Damit ist über das Vorkommen beider Zustandsformen alles Wesentliche gesagt, aber neben den statischen Verhältnissen sind für unsere Betrachtung auch die dynamischen Gleichgewichtsbeziehungen von Wichtigkeit, sie haben, soweit ich sehe, noch keine Darstellung erfahren. Wollen wir uns Klarheit über sie verschaffen, dann gehen wir zweckmäßig davon aus, daß gelöste Komplexverbindungen genau wie einfache Elektrolyte eine gewisse Dissoziation[43]) zeigen. Aus dieser Tatsache folgt, daß sich in freier Lösung Komplex und Ion in einem bestimmten Gleichgewichtszustand einstellen werden, welcher nach dem Gesetz der Massenwirkung durch die Dissoziationskonstante gekennzeichnet ist. Nun kennen wir diese Gleichgewichtslage allerdings nicht, da die Zusammensetzung des Komplexes nicht bekannt ist, aber bezeichnen wir die unbekannten Bausteine der Verbindung einmal mit X, Y und Z, nehmen wir an, daß sie n_1-, n_2-, n_3-fach im Komplex enthalten seien, und deuten wir durch eckige Klammern die molaren Konzentrationen der verschiedenen Atomgruppen an, dann können wir ganz allgemein sagen, daß in wässeriger Phase bei konstanter Temperatur folgende Beziehung gelten muß:

$$\frac{[Ca]^{n_1}\,[X]^{n_2}\,[Y]^{n_3}\,[Z]^{n_4}}{[Ca_{n_1}\,X_{n_2}\,Y_{n_3}\,Z_{n_4}]} = k_1. \qquad (1)$$

Nun genügt diese Gleichung aber allein nicht, um die Verhältnisse erschöpfend darzustellen, denn wie wir oben gesehen haben, kommt der Komplexkalk nicht nur gelöst vor, sondern befindet sich zum Teil in Eiweißbindung. Wollen wir auch diese dritte Fraktion mit einbeziehen, so müssen wir uns die Frage vorlegen, ob zwischen den beiden Phasen des Komplexes ähnliche Beziehungen bestehen wie wir sie für Ion und löslichen Komplex abgeleitet haben, und das ist in der Tat der Fall. Nach allem was wir wissen, stellt sich bei jedem Adsorptionsvorgang genau wie bei der Dissoziation ein bestimmtes Gleichgewicht ein, und wenn wir die von Freundlich[44]) abgeleitete Adsorptionsisotherme heranziehen, dann sind wir in der Lage, auch diese Beziehung angenähert durch eine Gleichung wiederzugeben. Bezeichnen wir den Komplex wieder mit der oben angewandten Formel, deuten wir die wässerige Phase durch eckige Klammern und die Eiweißphase dadurch an, daß wir die ganze Formel in ein Kästchen einschließen, dann gilt nach Freundlich die Gleichung:

$$\frac{[Ca_{n_1}\,X_{n_2}\,Y_{n_3}\,Z_{n_4}]^{\frac{1}{x}}}{\left|\,Ca_{n_1}\,X_{n_2}\,Y_{n_3}\,Z_{n_4}\,\right|} = k_2 \qquad (2)$$

---

[43]) Vgl. Nernst, W.: Theoretische Chem., XV. Aufl., Stuttgart 1926, S. 628.

[44]) Vgl. Freundlich, H.: Kapillarchemie, III. Aufl., Leipzig 1923. S. 232.

vorausgesetzt, daß wir die Konzentration im Zähler als Mol/Liter, im Nenner als Mol/Gramm Eiweiß verstehen; x ist dabei eine besondere Konstante, welche durch die Natur des Komplexkalkes bestimmt ist.

Mit diesen zwei Gleichungen sind die gesetzmäßigen Beziehungen zwischen allen drei Kalkfraktionen festgelegt, und wir sind nunmehr in der Lage, uns ein klares Bild zu machen von den Vorgängen, die sich abspielen werden, wenn man eine der drei Fraktionen ändert. Setzen wir in einem System wie dem Blut z. B. Ca-Ionen zu, so wird der Komplex nach Gleichung 1) dem Ionenprodukt nicht mehr die Waage halten können, es wird also zu einer Zunahme der 2. Fraktion kommen. Durch diese Vermehrung wird aber auch die Adsorptionsisotherme betroffen. Hier kann seinerseits der Eiweißkalk dem gelösten Komplex nicht mehr das Gleichgewicht halten und die Folge ist, daß auch die 3. Fraktion sich vergrößert. Genau das entgegengesetzte gilt bei Ionenentzug. Vermindern wir die Ca-Ionen, sei es durch Fällung mit Oxalat, sei es durch Entionisierung mit Citrat, dann wird es umgekehrt zu einer gewissen Komplexspaltung kommen und diese führt ihrerseits dazu, daß sich der Eiweißkalk teilweise aus seiner Bindung löst. Wir kommen somit zu dem Schluß, daß wir überhaupt nicht in der Lage sind, den Ionenbestand zu verändern, ohne gleichsinnige Verschiebungen in den beiden Komplexfraktionen hervorzurufen.

Wollen wir biologische Folgerungen aus der gegebenen Ableitung ziehen, so könnte jedoch noch ein Einwand erhoben werden. Man könnte sagen, daß die besprochenen Einstellungsvorgänge praktisch außer acht bleiben können, weil sie zu langsam ablaufen, und in der Tat wäre es denkbar, daß im Versuch zugesetzte Ca-Ionen Zeit finden, ihre Wirkung aufs Herz zu entfalten, ehe eine Umsetzung zu Komplexkalk erfolgt. Dementsprechend müssen wir Klarheit gewinnen über die Schnelligkeit, mit der der Auf- und Abbau des Komplexes sich vollzieht, und da die Geschwindigkeitskonstanten nicht bekannt sind, so sind wir hierbei auf Anhaltspunkte anderer Art angewiesen. Sie ergeben sich für den Abbau aus der Oxalatfällung im Blut. Dies bei der Kalkbestimmung angewandte Verfahren lehrt, daß praktisch eine $^1/_2$ Stunde genügt, um den Blutkalk niederzuschlagen, und da in dieser Zeit nicht nur die Umsetzung zwischen Oxalat- und Ca-Ionen stattfindet, sondern eine ganze Reihe von Reaktionen nacheinander ablaufen, nämlich 1. die Lösung des Komplexkalkes aus seiner Eiweißbindung, 2. die Aufspaltung des Komplexes in Ionen, 3. die Vereinigung der Ca-Ionen mit Oxalat und 4. die Abscheidung des Salzes als fester Niederschlag, so können wir schließen, daß die Reaktionsdauer der eigentlichen Komplexspaltung eine sehr kurze sein muß.

Um für die Aufbaureaktion die Frage zu beantworten, gehen wir am besten aus von der Dissoziationskonstante. Sie ist ihrem Wert nach zwar nicht bekannt, aber aus dem geringen Dissoziationsbestreben des Blutkomplexes läßt sich entnehmen, daß ihr nur ein kleiner Wert zukommt. Da nun die Dissoziationskonstante ein dynamisches Gleichgewicht kennzeichnet, da sie ihrem letzten Wesen nach nichts anderes darstellt als einen Quotienten, gebildet aus den Ge-

schwindigkeitskonstanten der Auf- und Abbaureaktion, so ergibt sich aus dem kleinen Wert, daß auch der Aufbau des Komplexes rasch, vielleicht noch rascher vor sich gehen wird als der Abbau. Wir kommen somit zu dem Ergebnis, daß der gelöste und eiweißgebundene Komplexkalk jede Ionenverschiebung nicht nur gleichsinnig, sondern auch unverzüglich beantwortet, und daran wird sich selbst dann nichts ändern, wenn sich später herausstellen sollte, daß wir es nicht mit einer einzigen Komplexverbindung zu tun haben, sondern mit einer Gruppe chemisch verwandter Körper; es müßte dann nur an Stelle der beiden oben verwandten Gleichungen eine ganze Anzahl derartiger Formelpaare aufgestellt werden.

Betrachten wir unter diesem neuen Gesichtswinkel nun die zahlreichen Veröffentlichungen, die sich mit der Pharmakologie des Kalkes schon beschäftigt haben, so zeigt sich, daß in unserem Zusammenhang nur recht wenige Arbeiten Beweiskraft besitzen. Bei den meisten dieser Untersuchungen ist nämlich so verfahren worden, daß im Laufe des Versuches der Ionenbestand verändert wurde. An sich wurde dabei immer wieder festgestellt, daß man alle Wirkungen des Kalkes durch Ionenzugabe hervorzurufen vermag und daß man umgekehrt imstande ist, durch Ionenentziehung jede Kalkwirkung zu beseitigen. Vergegenwärtigen wir uns nun aber, daß Ionenverschiebungen nicht möglich sind, ohne daß gleichartige Veränderungen im Komplexkalk auftreten, so folgt, daß sich bei diesem Vorgehen auch nicht entscheiden läßt, ob wirklich die Ionenverschiebung selbst oder ob die sekundäre Konzentrationsänderung des Komplexes das Wirksame war.

Bei der Betrachtung unserer Sonderfrage kann eine große Zahl von Arbeiten danach unberücksichtigt bleiben, und zwar ist der Kreis der Veröffentlichungen, die unter diese Überlegung fallen, sicherlich nicht klein zu veranschlagen, denn u. E. gelten die geäußerten Bedenken nicht nur für alle Untersuchungen, bei denen der Kalkspiegel im strömenden Blut verändert worden ist, sondern es gehören hierhin auch alle Versuche, bei denen der Kalkgehalt der Ringerlösung abgeändert wurde. Handelt es sich hier auch um eine Lösung, die in frischem Zustand nur salzsauren Kalk enthält, so ist doch klar, daß bei der Berührung mit Organen nicht nur Eiweiß einströmt, sondern daß auch Komplexkalk reichlich aus dem Gewebe in die äußere Lösung gelangt, und so ist mit ähnlichen Gleichgewichtseinstellungen auch hier zu rechnen. Fürs Froschherz ist ein derartiges Austreten von Kalk durch die Versuche von Böhm[45], Gros[46], Arima[47] und Clark[5] unmittelbar erwiesen.

Schaltet man alle hierhergehörigen Arbeiten aus, so bleiben nur sehr wenige Veröffentlichungen übrig, welche für die Wirksamkeit des Ions eintreten und welche die Beweisführung auf anderen Wegen versucht haben, und zwar handelt es sich hauptsächlich

[45]) Böhm, R.: Arch. f. exp. Path. **75**, 230 (1914).
[46]) Gros, O.: ebenda **71**, 395 (1913).
[47]) Arima, R.: Pflügers Arch. **157**, 531 (1914).

um Versuche von Hastings und von Brull. Hastings[48][49] hat sich bemüht, die zweite Dissociationskonstante des Calciumcitrats zahlenmäßig festzulegen. Er verwandte zu diesem Zweck Modellösungen, die etwa der Ringerlösung entsprachen; er ersetzte in ihnen das Kochsalz teilweise durch Calciumcitrat, brachte sie dann einerseits mit einem O_2/CO_2-Gemisch, andererseits mit $CaCO_3$ als Bodenkörper ins Gleichgewicht und ermittelte schließlich nach allen diesen Vorbereitungen die molaren Ionenkonzentrationen, die zur Berechnung der Konstante erforderlich waren, d. h. also [Ca++], [Citrat$^{\equiv}$] und [Ca-Citrat^{-}]. Bei der Bestimmung der Calciumionen fand er nun, daß zuverlässige Werte für den ionalen Kalk sich nicht nur gewinnen ließen, wenn er die Sättigungsgleichung des Carbonats $[Ca] \times [CO_3] = L$ der Berechnung zugrundelegte, sondern er kam zu brauchbaren Zahlen auch dann, wenn er als Testobjekt das Froschherz benutzte in ähnlicher Weise, wie das vor ihm Trendelenburg und Göbel[50] schon versucht haben und aus der guten Übereinstimmung zwischen chemischem und biologischem Verfahren schloß Hastings auf die Wirksamkeit des Calciumions.

Auf den ersten Blick hat diese Art der Beweisführung sicherlich viel bestechendes, geht man jedoch zurück bis auf die Voraussetzungen, die dem ganzen Verfahren zugrundeliegen, so stößt man doch auf verschiedene bedenkliche Annahmen, welche die Beweiskraft der Arbeit stark erschüttern. Die erste Annahme betrifft die Zustandsbedingungen des Kalkes. Hastings geht bei seinen Berechnungen ohne weiteres davon aus, daß der gesamte nichtionale Kalk seiner Modellösungen in Citratbindung vorhanden ist: Sowohl der [Citrat$^{\equiv}$] wie der [Ca-Citrat^{-}] Faktor ist in der Dissociationsgleichung unter dieser Voraussetzung errechnet und auch die Löslichkeitskonstante L ist allein unter dieser Bedingung gültig[16]. Nun haben aber McBain und van Rysselberge[51][52] gezeigt, daß der Kalk selbst in ganz gewöhnlichen Calciumchloridlösungen bei Gegenwart anderer Chloride schon Komplexbildungen eingeht. Ähnlich wie in der Lugolschen Lösung das Jod in Form von $[KJ_3]^-$ Ionen vorliegt, bildet sich in Chloridlösungen nach diesen Forschern $[CaCl_3]^-$ in recht merklichen Beträgen, und es sind danach in der von Hastings gegebenen Ableitung zahlreiche kleine Fehler anzunehmen welche in ihrer Gesamtheit das Ergebnis sicher nicht unbeeinflußt lassen.

Eine weitere Unstimmigkeit betrifft die Frage der Sättigung. Hastings unterstellt bei seiner Beweisführung, daß die benutzten

---

[48]) Hastings, B. u. Mc Lean, F.: J. of biol. Chem. **107,** 337 (1934).

[49]) Hastings, B., Mc Lean, F., Eichelberger, L., Hall, J. und Da Costa, E.: ebenda **107,** 351 (1934).

[50]) Trendelenburg, P. u. Göbel, W.: Arch. f. exp. Path. **89,** 171 (1921).

[51]) Mc Bain, J. W. u. van Rysselberge, P.: J. americ. chem. Soc. **50,** 3009 (1928).

[52]) Mc Bain, J. W. u. van Rysselberge, P.: ebenda, **52,** 2336 (1930).

Lösungen alle genau der Sättigungsgrenze des Calciumcarbonats entsprachen und daß er berechtigt war die Löslichkeitskonstante L anzuwenden. Nun ist aber die Herstellung gesättigter Lösungen bei $CaCO_3$ bekanntlich nicht einfach, und so erscheint diese zweite Voraussetzung ebenfalls heikel. Zieht man frühere Arbeiten von Hastings[16]) heran, so findet man zahlreiche Beispiele dafür, daß kalkhaltige Salzlösungen ganz einfacher Art überhaupt nicht zur Einstellung zu bringen waren und auch bei den hier verwandten Citratlösungen sind lösungsbegünstigende Faktoren anzunehmen, denn der Verfasser gibt zu, daß selbst monatelanges Ausschütteln mit festem $CaCO_3$ nicht zum Ziele führte, wenn zu Beginn eine Übersättigung bestand. Zuverlässig war nach Hastings die Einstellung nur dann, wenn die Modellösungen zunächst untersättigt waren, aber es ist dem entgegenzuhalten, daß Hastings schon bei seinen früheren Versuchen[16]) teilweise Lösungen gebraucht hat, die nach Wasserstoffzahl, Ionenaktivität und Citratkonzentration den hier benutzten genau entsprachen, und wenn man in diesen älteren Tabellen nun die [Ca++]-Werte einmal unter Benutzung von L, einmal mit Hilfe der hypothetischen zweiten Dissociationskonstante K ausrechnet, so zeigt sich, daß auch bei anfänglicher Untersättigung die Werte häufig vollkommen auseinanderfallen, so findet man z. B. in einem Versuche (S. 758, Nr. 11) nach der ersten Formel 0.45 MM [Ca++], nach dem zweiten Verfahren aber 2,48 MM! Nun kann man gegen diese Art der Nachprüfung allerdings noch einwenden, daß im zweiten Fall bei der Berechnung die Ausgangskonzentration des Citrats eingesetzt worden ist und nicht, wie korrekterweise eigentlich zu fordern, die nach dem Ausschütteln vorhandene Endkonzentration, aber, falls überhaupt die Behandlung einen Citratverlust mit sich bringt, so wird die Spanne zwischen beiden Werten dadurch höchstens verschärft, und so ist am Versagen der Einstellung kaum zu zweifeln. Wir kommen somit zu dem Ergebnis, daß auch die zweite Voraussetzung nicht einwandfrei sichersteht, und bedenkt man darüberhinaus, daß auch das Dissociationsschema nur eine Hypothese ist und daß die Dissociation vielleicht in ganz anderen Bahnen verläuft, wie Klinke das vermutet, so können wir den hier verzeichneten Beweis vorläufig nicht als schlüssig betrachten.

Ganz Ähnliches gilt weiter auch für eine Arbeit von Brull[53]. Brull hat die Zustandsformen des Kalkes am Starlingschen Herzlungennierenpräparat und am Gesamttier untersucht. Seine Versuche brachten ihn zunächst zu der Feststellung, daß die wirksame Fraktion löslich sein müsse, denn er beobachtete nach Zusatz von $CaCl_2$, daß das Abklingen der Kalkwirkung mit einer Abnahme des löslichen Kalkes verbunden war. Bei weiteren Versuchen mit Citratzusatz fand er dann aber, daß eine Vermehrung des löslichen Kalkes auf diesem besonderen Wege die Herzwirkung nicht steigert, und da nun seit den Arbeiten von Sabbatani[54]), Rindell[55]) u. a. be-

[53]) Brull, L.: Arch. internat. de Physiol. **32**, 138 (1930).
[54]) Sabbatani: Arch. intern. de Biologie **39**, 341 (1903).
[55]) Rindell, zitiert nach Abegg.

kannt ist, daß das Citrat mit Ca Komplexverbindungen bildet, so ist Brull der Überzeugung, daß von den beiden Fraktionen des löslichen Kalkes nicht der Komplex, sondern das Ion als wirksame Zustandsform zu betrachten ist. Diese Brullsche Beweisführung zeigt unseres Erachtens zwei Lücken: Setzen wir Citrat zu, so können wir 1. die Abnahme der Herzwirkung nicht ohne weiteres auf eine Ionensenkung beziehen, denn, wie wiederholt ausgeführt, erfährt dabei nicht nur der ionisierte Kalk eine Verminderung, sondern auch der im Blute vorgebildete normale Komplexkalk. Und 2. scheint es uns auch nicht angängig, den Citratkomplex, wie Brull das tut, pharmakologisch mit dem im Blute vorgebildeten Komplexkalk gleichzusetzen. Beide Verbindungen stimmen zwar darin überein, daß sie Ca als Zentralatom enthalten, aber das schließt unseres Erachtens nicht aus, daß sie im übrigen in ihren chemischen und physikalischen Eigenschaften von Grund aus verschieden sind. Gerade in unserem Falle weist der Umstand, daß von den beiden Ca-Verbindungen der Blutkomplex ausgesprochene Neigung besitzt, sich mit dem Eiweiß zu verbinden, während nach Brulls Befunden dem Citratkomplex diese Fähigkeit fehlt, auf tiefgreifende Unterschiede hin.

In seiner Arbeit erwähnt Brull außerdem Befunde von Clark, Percival und Stewart[56]). Diese Forscher bestimmten bei Versuchen am Froschherz unmittelbar die Ionenfraktion nach dem Verfahren von Brinkmann und van Dam[57]) und fanden, daß die Herzwirkung innerhalb gewisser Grenzen der Ionensättigung parallel ging. Auch hierin sieht Brull den Beweis einer Ionenwirkung, aber zunächst ist dazu zu bemerken, daß die Verfasser aus ihren Versuchen diesen Schluß nicht ziehen. Clark[5]) kommt an anderer Stelle im Gegenteil selbst zu einer Ablehnung und auch von unserem Standpunkt aus können wir der Brullschen Auffassung nicht beitreten. Daß bei Kalkzusatz zur Ringerlösung der Ionenspiegel in die Höhe geht, soll an sich nicht geleugnet werden und ebensowenig, daß eine Übereinstimmung zwischen Ionensättigung und Kalkwirkung beobachtet wurde, aber unseres Erachtens ist damit nichts bewiesen; denn da bei der Clarkschen Versuchsanordnung die Ringerlösung in stetem Austausch mit dem Herzen stand, so ist mit genau der gleichen Erhöhung auch beim Komplexkalk zu rechnen.

Nach allen diesen Vorbemerkungen wollen wir die Frage, welche von den drei Zustandsformen des Kalkes als Träger der Herzwirkung anzusehen ist, nun von uns aus in Angriff nehmen. Da eine Untersuchung in der bisherigen Weise von vornherein wenig Aussicht auf Erfolg bot, so wurde hier davon Abstand genommen, das Kalkangebot isoliert zu verändern, wir waren vielmehr bestrebt, das Zusammenwirken des Kalkes mit anderen Substanzen zum Gegenstand unserer Prüfung zu machen. Wir wählten dazu 2 Paarlinge: Phosphat und Strophanthin und zwar haben wir in einer 1. Versuchs-

---

[56]) Clark, A., G. Percival u. C. Stewart: J. of Physiol. **66**, 346 (1928).

[57]) Brinkmann u. van Dam: Kon. Akad. te Wetensch., dam. Proc. **22** (1920).

reihe das Zusammenwirken von Kalk und Phosphat am überlebenden Froschherzen studiert, und anschließend in einer 2. Versuchsreihe die Zusammenhänge zwischen Kalk und Strophanthin am isolierten Schildkrötenherzen untersucht. Tatsächlich konnten dabei Befunde erhoben werden, die in der Lösung unserer Frage vielleicht einen Schritt vorwärts bedeuten, und zwar ergaben sich überraschenderweise Anhaltspunkte, welche weder auf den ionalen noch auf den kolloiden Kalk hinweisen, sondern welche dafür sprechen, daß die Fraktion der löslichen Komplexverbindungen für die Herzwirkung verantwortlich ist.

A. Kalk und Phosphat.

Die Untersuchung begann mit Kombinationsversuchen, bei welchen neben dem Kalk Phosphat zur Anwendung kam. Um die Überlegungen klar zu machen, die den Anlaß zu diesen Versuchen gaben, gehen wir zweckmäßig von der oben abgeleiteten Dissoziationsgleichung aus. Wie in der Einleitung besprochen, folgt aus dieser Gleichung, daß eine Vermehrung des Faktors Ca im Zähler den Faktor [CaXYZ] im Nenner gleichsinnig verändert und so bleibt unentschieden, ob Ion oder Komplex das eigentlich Wirksame ist.

Dafür weist uns die Gleichung aber einen anderen Weg. Vergrößern wir nicht den Faktor Ca, sondern wählen wir irgendeinen anderen Faktor des Zählers, z. B. [X], so haben wir es im Gegensatz zu oben mit einer ungleichsinnigen Verschiebung der beiden entscheidenden Fraktionen zu tun. In diesem Falle wird allein der Komplexkalk zunehmen, denn auch hier kann er dem Ionenprodukt nicht mehr die Waage halten, der ionisierte Kalk aber wird umgekehrt entsprechend der Komplexbildung abnehmen. Setzen wir X dem Herzinhalt zu, so bietet dich demnach eine Entscheidungsmöglichkeit. Stellen wir jetzt eine Verstärkung der Kalkwirkung fest, so kann es als wahrscheinlich gelten, daß es sich um eine Komplexwirkung handelt. Beobachten wir aber eine Abnahme der Kalkwirkung, dann spricht das für die Wirksamkeit des Ions.

Ein solches Verfahren setzt jedoch die wenigstens teilweise Kenntnis der Bausteine voraus, welche an der Bildung des Komplexes beteiligt sind, und so haben wir uns die Frage vorgelegt, welche Ionen in Betracht zu ziehen sind. Da die Zusammensetzung des Komplexes nicht bekannt ist, so ist eine Antwort nicht ganz leicht, aber wie Klinke schon gezeigt hat, bieten sich bei Durchsicht der Literatur doch Hinweise auf die Natur der Radikale und zwar ergeben sie sich nicht so sehr aus den chemischen Eigenschaften des Blutkomplexes als aus dem Studium des Kalkstoffwechsels.

Zunächst mögen die mehr negativen Anhaltspunkte besprochen werden, die sich aus der Betrachtung des Blutkalkes entnehmen lassen. Aus der Gegenwart des Komplexions im Blute folgt erstens, daß es sich um eine unter diesen Bedingungen beständige Verbindung handelt, und damit scheiden 2 Möglichkeiten aus, einerseits die Kalkverbindung des Knochens, an die von Dolhaine[28]) ge-

dacht worden ist, denn der Apatit zerfällt bei dem p_H des strömenden Blutes, und andererseits eine von Siegfried[58]) untersuchte Gruppe, Additionsverbindungen zwischen CO_2 und Aminosäuren. Letztere vermögen an sich leichtlösliche, wenig dissoziierte Ca-Salze zu bilden, aber nach Siegfrieds eigenen Untersuchungen sind sie bei 37° schon nicht mehr beständig.

Aus der negativen Ladung des Komplexes ergibt sich zweitens, daß die übrigen Bausteine der Verbindung wohl Anionen sein werden und zwar können es natürlich nur solche sein, die normalerweise im Blute vorkommen. Nitrat, Acetat und Citrat werden damit unwahrscheinlich, denn sie sind zwar Komplexbildner, und Citrat ist in der Milch vielleicht sogar als solches wirksam, aber im Blute sind nur in ungenügender Menge vorhanden.

Die Anhaltspunkte, die die Betrachtung des Blutkomplexes liefern, sind damit erschöpft. Wenden wir unsere Aufmerksamkeit jetzt aber dem Kalkstoffwechsel zu, dann erhalten wir Hinweise, die auf zwei bestimmte Anionengruppen hindeuten, und zwar auf hohe Fettsäuren und auf die Ionen des Phosphats.

Was die Fettsäuren anbelangt, so sind es vornehmlich die Resorptionsbedingungen, welche den Verdacht auf diese Körperklasse lenken. Nach Untersuchungen von Aristowsky[59]) steht fest, daß die Kalkaufnahme fast ausschließlich im Ileum stattfindet. Die Resorption wird bei dem dort herrschenden p_H aber nur zum geringsten Teil in Ionenform erfolgen können, da bei einer nicht ganz außergewöhnlichen Nahrung stets gleichzeitig kalkfällende Ionen wie CO_3, PO_4 und Fettsäuren zugegen sind. Nach Versuchen von Buchbinder und Kern[60]) sowie von Snell[61]) wird der Kalk erst durch die Einwirkung der Galle aufnahmefähig. Sie konnten zeigen, daß nach Unterbindung des Ductus choledochus der Blutkalkspiegel erheblich absinkt, während umgekehrt Gallensäurezufuhr nach Sekitoo[62]) den Blutkalk ansteigen läßt. Nun beruht aber nach Wieland[63]) die resorptionsfördernde Wirkung der Galle auf Komplexsalzbildungen, die durch die Gallensäuren eingeleitet werden, und da bei diesem Vorgang nach Hickmans[64]) Fettsäuren in bestimmter Menge notwendig sind, so liegt es nahe, daran zu denken, daß Fettsäuren im Komplex vertreten sind. Diese Annahme erfährt eine weitere Stütze durch Reagensglasversuche von Klinke. Er fand die Löslichkeit von Kalkseifen tatsächlich durch Gallensäuren gesteigert, wobei nach den Refraktometerwerten zu schließen, sich starke molekulare Umschichtungen vollzogen.

---

[58]) Siegfried, M.: Z. f. phys. Chem. **44,** 85 (1905); **46,** 401 (1905).
[59]) Aristowsky, W.: Biochem. Z. **166,** 55 (1925).
[60]) Buchbinder, W. u. R. Kern: Amer. J. Physiol. **80,** 273 (1927).
[61]) Snell, A. M.: Ebenda **92,** 630 (1930).
[62]) Sekitoo, T.: J. of Biochem. **11,** 391 (1930).
[63]) Wieland, H. u. H. Sorge: Z. f. phys. Chem. **97,** 1 (1926).
[64]) Hickmans, E.: Biochem. J. **18,** 925 (1924).

Wenden wir uns nun dem Phosphat zu, so können wir feststellen, daß fast das gleiche, was über die Fettsäuren gesagt worden ist, auch für das Phosphat zutrifft. Dies Anion wird nach Aristowsky zusammen mit dem Kalk im Ileum resorbiert, und die Kalkaufnahme steht dabei nach Orr, Holt, Wilkins und Boone[65]) nicht nur in Abhängigkeit vom Fett-, sondern auch vom Phosphatgehalt der Nahrung, wobei ein Zahlenverhältnis Ca:P von etwa 1,3 am günstigsten zu sein scheint. Bei weniger oder mehr leidet die Resorption, und da auch hier an sich ein kalkfällendes Anion vorliegt, und da auch die Löslichkeit des Kalkphosphats durch Gallensäuren gesteigert wird, so ist sicherlich der Verdacht nicht unbegründet, daß neben den Fettsäuren auch Phosphat am Aufbau des Komplexes beteiligt sein könnte.

Diese Vermutung erhält eine weitere Stütze, wenn wir die Ausscheidung betrachten. Bei der Durchströmung der überlebenden Niere beobachteten Eichholtz und Starling[66]) einerseits, daß nach Kalkzusatz zum Blute die Phosphatausscheidung zum Erliegen kam, andererseits, daß nach Phosphatzusatz die Kalkausscheidung versiegte, ohne daß es im Blute zur Ausfällung von Kalkphosphat kam. Daraus schließen beide Forscher, daß unter diesen Umständen eine für die Niere undurchgängige lösliche Verbindung sich bildet, wobei sie allerdings nicht an den Komplexkalk des Blutes, sondern an kolloides Calciumphosphat denken. Nun wissen wir aber durch Vivi-ultrafiltrationsversuche von Brull[5]), daß die Ausscheidung schon erlischt, ehe ein Übergang von Ca und Phosphat in den kolloiden Zustand sich nachweisen läßt, und da Tschopp[42]) zeigen konnte, daß der Harn nur ionisierten Kalk enthält, daß also der Komplexkalk des Blutes für die Niere undurchgängig ist, so erscheint uns die Annahme näherliegend, daß unter den hier eingehaltenen Versuchsbedingungen Komplexbildung erfolgt und daß Phosphat ein Baustein ist.

Auffällige Beziehungen zwischen Ca und Phosphat läßt weiter auch der Stoffwechsel des Knochens erkennen, und zwar treten sie bei der Rachitis besonders klar zutage. Eine der sinnfälligsten Erscheinungen dieser Erkrankung ist die unzureichende Verknocherung des Knorpels. Sie ist nach Shipley[67]) dadurch bedingt, daß der Knorpel vom Blute her kein ausreichendes Kalkangebot erhält, denn beim Einbringen von rachitischem Knorpel in normales Serum geht nach ihm die Verkalkung ungehemmt vor sich. Nun wissen wir aber, daß der Blutkalkspiegel bei Rachitis im allgemeinen nicht verändert ist, während wir das Phosphat regelmäßig gesenkt finden; ferner führt bei Vitaminmangel zwar Phosphatentzug zu Rachitis[68]), aber Ca-Entzug hat nicht notwendig diese Wirkung und fortgesetzte Einspritzungen von Phosphat vermögen menschliche und experimentelle

[65]) Orr, W., E. Holt, Wilkins, L. u. F. Boone: Amer. J. of dis. children **28**, 574 (1924).

[66]) Eichholtz, F. u. H. Starling: Proc. Roy. Soc. of London, Series B, **98**, 93 (1925).

[67]) Shipley, P.: Bull. of the Johns Hopkins hosp. **35**, 304 (1924).

[68]) Stepp, W.: Ergebn. d. Physiol. **24**, 67 (1925).

Rachitis günstig zu beeinflussen [69] [70] [71] [72], während Kalkzufuhr die Störung nicht behebt. Schließlich ist noch anzuführen, daß sich beim Gesunden in Perioden gesteigerten Knochenwachstums erhöhte Blutphosphatwerte finden, z. B. im Kindesalter und bei Erwachsenen nach Knochenbrüchen, und so ist der Schluß wohl berechtigt, daß bei der Rachitis nicht ein einfacher Kalkmangel vorliegt, sondern daß dem Phosphat mindestens gleiche Bedeutung zukommt. Da nun Untersuchungen von Benjamin und Heß [32] ergeben haben, daß wenn auch nicht die Gesamtmenge, so doch die besondere Fraktion des Komplexkalkes bei Rachitis immer erniedrigt ist, so ist der Gedanke sicherlich nicht von der Hand zu weisen, daß die erste Kalkaufnahme beim Knochen genau wie bei anderen Geweben in Form von Komplexverbindungen erfolgt, worauf im übrigen auch Befunde von Rabl [73] hinweisen, und da zugleich mit dem Komplex das Phosphat vermindert ist, so scheint es uns auch vom Standpunkt der Rachitis erlaubt, zwischen beiden Stoffen eine Verbindung zu vermuten.

Im Anschluß hieran ist es vielleicht nicht unangebracht, auch auf die Tetanie noch kurz einzugehen. Bekanntlich finden wir bei dieser Erkrankung hohe Phosphatwerte im Blute, und nach unserer Auffassung sollte eigentlich in diesem Falle ein vermehrter Aufbau von Komplexkalk erfolgen und eine vermehrte Speicherung im Gewebe. Dieser unserer Vorstellung scheinen zunächst die Tatsachen zu widersprechen, denn im Blute ist der Kalkspiegel in der Regel nicht vermehrt, sondern vermindert und die Mehrzahl der Forscher sieht mit Freudenberg und György das Wesen der tetanen Störung nicht in der Zunahme des Phosphats sondern in der herrschenden Blutalkalosis. Sehen wir uns die Verhältnisse näher an, dann sind die Krankheitserscheinungen mit unserer Auffassung aber nicht unvereinbar. Der Rückgang des Blutkalks schließt ja nicht aus, daß gleichzeitig eine vermehrte Bildung von Komplexkalk erfolgt und eine Speicherung im Gewebe, und eine solche ist sogar wahrscheinlich, denn nach Stoffwechselversuchen [74] [75] nimmt der Gesamtkalkbestand des Körpers während der Tetanie zu und zwar scheint sich nach Untersuchungen am Muskel [76] nicht nur der Knochen, sondern alle Gewebe mit Kalk zu beladen. Und außerdem sind in der letzten Zeit auch Stimmen laut geworden, welche die Alkalose als auslösende Ursache

---

[69] Großer, P.: Z. f. Kinderheilkde. **25,** 141 (1920).

[70] Pappenheimer, A.: Proc. of soc. f. exp. biol. a. med. **21,** 514 (1924).

[71] Korenschewsky, V. u. M. Carr: Biochem. J. **19,** 101 (1925).

[72] Karshan, M.: Proc. Soc. Exp. Biol. **27,** 200 (1929).

[73] Rabl, C.: Klin. Wschr. II, S. 1644 (1923).

[74] Greenwald u. Groß: J. of biol. Chem. **66,** 185 (1925).

[75] Fuller, Bauer, Ropes u. Aub: J. clin. Invest. **7,** 139 (1929).

[76] Behrendt: Ztschr. f. Kinderheilkde. **41,** 499 (1926).

ablehnen. Elias[77]), Tetzner[78]), Mainzer[79]), sowie Holt, Striegel und Perlzweig[80]) konnten trotz deutlicher Alkalosis weder mit Bicarbonat noch mit NaOH Krämpfe erzielen und zeigen auf diese Weise zunächst, daß nicht jede Entionisierung eine Tetanie auslöst. Und ferner sind Beobachtungen zu nennen, die bei chronischer Nephritis erhoben worden sind. Hier haben wir einen Zustand vor uns, bei dem im allgemeinen der Blutkalk vermindert, das Phosphat aber erhöht ist genau wie bei der kindlichen Tetanie und gerade hier ist ein entgegengesetzter Befund erhoben worden. Pinkus, Peterson und Kramer[81]) stellten fest, daß nephritische Sera gewöhnlich keine Verschiebungen zwischen den drei Kalkfraktionen zeigen, jedesmal aber, wenn es zu urämischen Krämpfen kam, beobachteten sie bei der Ultrafiltration eine Vermehrung des eiweißgebundenen Kalkes. Es scheint nach diesen Versuchen, als wenn es im Krampfanfall zu einer Kalkspeicherung im Gewebe kommt, und da ähnliche Befunde bei kindlicher Tetanie und bei tetanisch gemachten Hunden erhoben worden sind, so sehen Klinke u. a. überhaupt darin die Ursache und kommen zu einer Ablehnung der Freudenbergschen Theorie. Eine eigene Stellungnahme soll hier nicht erfolgen; für uns genügt, daß auch auf dem Gebiete der Tetanie unsere Betrachtungsweise vertretbar ist.

Hiermit sind alle Erscheinungen des Kalkstoffwechsels besprochen, die uns auf eine Mitbeteiligung des Phosphats am Komplex hinzuweisen scheinen. Aber ehe wir diesen Schluß wirklich ziehen, müssen wir noch untersuchen, ob auch die Phosphatfraktion des Blutes dieser Annahme entspricht. Wollen wir das Phosphat als Baustein des Komplexes betrachten, so ist einleuchtend, daß das Blutphosphat 1. nicht durchgehend ionisiert und 2. auch nicht gänzlich dialysabel sein darf.

Was zunächst die 1. Forderung anbelangt, so sprechen tatsächlich eine Reihe von Befunden dafür, daß die Fraktion des sogenannten anorganischen Serumphosphats teilweise im komplexem Zustande sich befindet, und zwar stammt die 1. hierhergehörige Beobachtung von Bernhard und Beaver[84]). Sie fanden bei Elektrodialyse des Serums, daß ein allerdings kleiner Teil des Phosphats zur Kathode wanderte. Bei Dialyseversuchen mit wechselndem p_H stellten ferner Winternitz und Stary[82]) fest, daß das Phosphat sich nicht entsprechend dem Donnan-Gleichgewicht einstellte, es verhielt sich vielmehr wie ein Kation. Und schließlich verdient ein Befund von Stella[83]) Erwähnung. Bei Diffusionsversuchen am Frosch-

[77]) Elias, H.: Wiener klin. Wschr. **35**, 784 (1922).
[78]) Tetzner, O.: Monatsh. f. Kinderheilkde. **29**, 207 1924.
[79]) Mainzer, F.: Z. f. d. ges. exper. Med. **32**, 476 (1926).
[80]) Holt, L., R. Striegel u. W. Perlzweig: Monatsschr. f. Kinderheilkde. **34**, 437 (1926).
[81]) Pinkus, J., H. Peterson u. B. Kramer: J. of biol. Chem. **68**, 601 (1926).
[82]) Winternitz, R. u. Z. Stary: Z. physiol. Chem. **182**, 107 (1929).
[83]) Stella, G.: J. of Physiol. **66**, 19 (1928).

muskel fand er, daß das austretende „anorganische" Phosphat eine geringere Diffusionsgeschwindigkeit aufwies als es seinen theoretischen Erwartungen entsprach. All dies spricht dafür, daß die Phosphatfraktion teilweise Komplexnatur besitzt, und die gleiche Vermutung haben auch Brull und Klinke auf Grund von Versuchen und Berechnungen geäußert.

Damit ist diese Forderung erfüllt, aber die beiden ersten Arbeiten stellen uns hier gleich vor eine neue Schwierigkeit, denn sie stempeln das Phosphat zu einem kationischen Komplex, während der Komplexkalk von uns ja als anionisch erkannt wurde. Bei näherer Betrachtung erweist sich dies Hindernis aber nicht als unübersteiglich: 1. ist zu bedenken, daß das Untersuchungsverfahren in beiden Fällen das chemische Gleichgewicht zerstört, daß also eine teilweise Aufspaltung von Komplexkalk erfolgt, und so wäre es denkbar, daß bei diesen Versuchen neben dem ursprünglichen Komplex auch Bruchstücke erfaßt worden sind. 2. ist nicht auszuschließen, daß der ungespaltene Komplex von Haus aus die Eigenschaften eines amphoteren Elektrolyten besitzt und 3. muß der Fall in Betracht gezogen werden, daß die Fraktion des Komplexkalkes nicht einheitlich ist, daß sie eine ganze Gruppe ähnlich gebauter Stoffe umfaßt, die vielleicht auch Unterschiede in ihrer elektrischen Ladung aufweisen, und so scheint es uns erlaubt, vorläufig dieser Schwierigkeit kein entscheidendes Gewicht beizumessen.

Unsere 2. Forderung an das Blutphosphat betrifft den Kolloidzustand. Auch hier liegen bereits zahlreiche Arbeiten vor. Am klarsten liegen die Verhältnisse im Plasma. Bei sämtlichen Dialyseversuchen[53] [84] [85] wurde hier festgestellt, daß ein Teil der Phosphatfraktion die Membran bzw. das Ultrafilter nicht zu durchdringen vermag und zwar wurden 30 % und mehr zurückgehalten. Kein so eindeutiges Verhalten zeigte dagegen das Serum. Nach Versuchen von Scholtz[86] sowie Winternitz und Stary[82] am Pferd, Greene und Power[87] am Hund, Grollmann[88] an Frosch, Schildkröte und Huhn, befinden sich zwar auch hier 10 % des Phosphats im kolloiden Zustand, aber dem stehen Untersuchungen von Brull[53] sowie von Benjamin und Heß[32] an Mensch, Hund und Ratte gegenüber, die in der Mehrzahl ergebnislos verliefen, und auch beim Huhn fand Laskowski[89] nur in der Legezeit einen Fehlbetrag im Ultrafiltrat.

Es besteht demnach ein Unterschied zwischen Plasma und Serum und dies hat Brull zu besonderen Erörterungen veranlaßt. Er stellt dem verschiedenen Verhalten des Phosphats Kalkversuche gegenüber, bei denen er hier wie dort einen fast gleich großen adialysablen Anteil feststellte und schließt daraus, daß Kalk und Phosphat

---

[84]) Mayrs, E.: J. of Physiol. **58**, 276 (1924).
[85]) Tschimber, Cl. u. Hirth: C. r. séanc. d. soc. biol. **91**, 592 (1924).
[86]) Scholtz, H.: Biochem. Z. **231**, 135 (1930).
[87]) Greene, G. u. M. Power: J. of biol. Chem. **91**, 182 (1930).
[88]) Grollmann, A.: Ebenda **72**, 565 (1927).
[89]) Laskowski, M.: Biochem. Z. **260**, 230 (1933).

kaum derselben Verbindung angehören dürften. Demgegenüber ist aber zunächst hinsichtlich des Kalkes zu sagen, daß die Defibrinierung des Plasmas auch für dies Ion nicht gleichgültig zu sein scheint. Aus den Brullschen Tabellen folgt, daß im Durchschnitt der kolloide Anteil des Kalkes bei der Defibrinierung um mehr als 10 % abnimmt und ebenso fanden Stewart und Percival[90]) im Plasma 10—20 % höhere Werte. 2. Müssen unseres Erachtens aber auch die scheinbar negativen Phosphatversuche Brulls bei der Serumdialyse vorsichtiger beurteilt werden: Wie wir gesehen haben, kann die Fraktion des sogenannten anorganischen Serumphosphats in Wirklichkeit nicht als einheitlich angesehen werden. Sie besteht vielmehr selbst aus zwei Zustandsformen: 1. aus negativ geladenen Phosphationen und 2. aus positiv geladenen komplexgebundenem Phosphat. Diese beiden Spielarten werden sich nun bei Dialyseversuchen gerade entgegengesetzt einstellen. Entsprechend den Gesetzen des Donnan-Gleichgewichts wird bei dem p_H des Serums einerseits das Komplexphosphat durch das Eiweiß teilweise im Innenraum zurückgehalten werden, andererseits werden die einfachen Phosphationen mehr in der Außenflüssigkeit als innerhalb der Dialysierhülse anzutreffen sein. Bestimmt man daher nur den Gesamtphosphatgehalt, wie Brull das getan hat, ohne eine Zerlegung in die beiden Unterfraktionen vorzunehmen, so folgt, daß man, aufs ganze gesehen, Gleichgewicht zwischen innen und außen finden kann, ohne daß das Komplexphosphat in Wirklichkeit diesem Befund zu entsprechen braucht. Es ist vielmehr denkbar, daß ein Fehlbetrag von Komplex im Außenraum durch vermehrtes Auswandern von Ionen ausgeglichen wird, und so muß man unseres Erachtens mit negativen Schlüssen vorsichtig sein.

Nicht nur die Eigentümlichkeiten des Kalkstoffwechsels, sondern auch die Eigenschaften des Blutes lassen die Annahme einer Mitbeteiligung des Phosphats am Komplex demnach als möglich erscheinen, aber eine andere Frage ist es, ob der im Blute gelöste Komplexkalk als eine einheitliche Fraktion angesprochen werden kann. Aus mehreren Gründen erscheint uns das zweifelhaft. Gegen eine eine einzige Verbindung scheinen uns zunächst die Resorptionsverhältnisse des Kalkes zu sprechen. Sie enthüllten uns die Bedeutung der Fette für die Kalkaufnahme im Darm. Nun ist der Gehalt an Fett in der Nahrung aber ein wechselnder; es werden dem Kalk nicht immer die gleichen Fettsäuren, geschweige denn gleiche Mengenverhältnisse angeboten, und so lassen schon die Aufnahmebedingungen unseres Erachtens den Verdacht begründet erscheinen, daß der Komplexkalk je nach den zur Verfügung stehenden Fettkörpern vielleicht verschiedene Bausteine benutzt, und die bedeutsamen Befunde von Clark[5]) am Herzen, auf die wir noch zurückkommen werden, geben dieser Vermutung eine weitere Stütze. Sie weisen nicht nur auf Fettsäureradikale im engeren Sinne hin, sondern auch auf lipoide Stoffe wie Cholesterin. Etwas Ähnliches scheint weiterhin aber auch für das Phosphat zuzutreffen, und zwar deuten unseres Erachtens vor allem von Brull bei Serumversuchen festgestellte Verschieden-

[90]) Stewart, C. u. G. Percival: Biochem. J. **22**, 548 (1928).

heiten in diese Richtung. Brull beobachtete, daß nach Kalkzusatz Ca rascher und reichlicher in den kolloiden Zustand überging als Phosphat, während er nach Phosphat bzw. nach Zugabe beider Stoffe fand, daß die Verschiebungen sich ungefähr entsprachen. Dieser Unterschied zeigt, daß im 1. Fall nicht der gesamte kolloide Kalk mit Phosphat reagiert, daß vielmehr ein überschüssiger Teil eigene Wege geht, was gegen die Annahme spricht, daß der Kalk sich mit einem einheitlichen Komplex Klinkescher Prägung umsetzt. Andererseits ist es unseres Erachtens aber auch nicht sehr wahrscheinlich, daß der fragliche Kalküberschuß sich unmittelbar als Ion mit dem Eiweiß vereinigt, denn nach Klinke, Rabl u. a. ist das Bindungsbestreben zwischen Ionen und Eiweiß gering, und so scheint es uns erlaubt, per exclusionem die Existenz von phosphatfreiem Komplexkalk in Betracht zu ziehen; wir glauben, daß auch das Phosphat unter Umständen im Komplex fehlen kann, genau wie wir die einzelnen Fettsäuren als vertretbar ansehen.

Die Frage nach den mutmaßlichen Begleitionen des Ca ist damit beantwortet, und so können wir uns jetzt unserem eigentlichen Untersuchungsplan zuwenden, welcher eine Prüfung dieser Begleitionen vorsieht. Nach unseren Ausführungen sind zwei ganz verschiedene Ionengruppen zu berücksichtigen, Fettsäureradikale und Phosphationen, die eigentlich zwei völlig getrennte Untersuchungsreihen verlangen, aber im vorliegenden Fall wird uns die Aufgabe dadurch sehr erleichtert, daß Clark[5]) für die Fettsäuren die Frage schon entschieden hat.

Clark hat zahlreiche Fettkörper am sogenannten hypodynamen Froschherzen untersucht. In vergleichenden Versuchen prüfte er hohe und niedere Fettsäuren und er kam dabei zunächst zu dem Ergebnis, daß verschiedene höhere Fettsäuren und zwar gerade diejenigen, die nach den Resorptionsumständen auch für die Komplexbildung in Frage kommen, aufs Herz eine anregende Wirkung entfalten, welche viel Ähnlichkeit mit der Digitaliswirkung besaß insofern, als sie am gesunden Herzen nur wenig, am geschädigten Herzen dafür aber um so stärker in Erscheinung trat. Entscheidend ist aber in unserem Zusammenhang erst, daß Clark hierbei unmittelbare Beziehungen zum Kalk feststellte. Er fand, daß das geschwächte Herz auf Kalkerhöhung allein nur mäßig ansprach, ebenso erholte es sich wenig, wenn Fettsäuren ohne Kalk dargeboten wurden, verabreichte er aber beide Stoffe gemeinsam, so gelang fast ausnahmslos die volle Wiederherstellung der Herzleistung. Die höheren Fettsäuren sind danach in der Lage, die Ca-Wirkung aufs Herz kombinatorisch ganz ausgesprochen zu verstärken und da hierbei unabhängig von den ablaufenden Reaktionen, d. h. davon, ob Kalkseifen sich bilden oder ob Komplexkalk entsteht, der Ionenbestand sich unter allen Umständen vermindern wird, so kann nach unseren eingangs angestellten Überlegungen dieser Befund kaum anders bewertet werden als ein Beleg dafür, daß hier der nichtionale Kalk wirksam ist, und tatsächlich hat bereits Clark selbst eine solche Vermutung geäußert, wobei

er allerdings genau wie Heubner in erster Linie an kolloide Verbindungen denkt.

Angesichts der Ergebnisse Clarks können wir uns hier sofort dem Phosphat zuwenden. Was seine Allgemeinwirkung anbelangt, so ist sie noch stark umstritten, denn die von Embden u. a.[91] [92] [93] [94] am Menschen festgestellte Leistungssteigerung konnte bei psychologisch einwandfreiem Vorgehen von Marbe[95] [96] nicht bestätigt werden.

Die Befunde am Herzen sind demgegenüber eindeutiger. Schon Göthlin[97] fand, daß ein geringer Phosphatzusatz zur Ringerlösung das Herz länger arbeitsfähig hält und spätere Untersuchungen[98] [99] [100] führten zu dem Ergebnis, daß Phosphat am kräftigschlagenden Herzen zwar fast wirkungslos ist, bei durch Ermüdung, Dauerspülung und verschiedene Vergiftungen geschädigten Herzen aber war eine erholende Wirkung sichtbar, d. h. auch das Phosphat scheint in mancher Beziehung digitalisähnliche Wirkungen auszuüben.

Die ausschlaggebende Frage kann hier jedoch nur sein, ob Phosphat auch noch im Zusammenwirken mit Kalk dessen Wirkung verstärkt, und diese Aufgabe ist, soweit ich sehe, noch nicht gelöst. Wir wissen zwar seit den wichtigen Beobachtungen von Günther und Heubner[9], auf die eingangs schon hingewiesen worden ist, daß Phosphatüberschuß im Herzinhalt die Kalkwirkung keineswegs zu beeinträchtigen braucht, daß Phosphat also nicht unbedingt antagonistisch wirkt; aber eine kombinatorische Verstärkung der Wirkung wurde dabei nicht festgestellt und um diese weitere Frage zu klären, wurden daher eigene Versuche in Angriff genommen.

Ich wählte dazu das Straub-Herz und zwar wurde in einer 1. Versuchsreihe die Herzwirkung des Phosphats bei Ca-Verminderung in einer 2. Versuchsreihe der Einfluß des Phosphats bei Ca-Vermehrung der Ringerlösung untersucht. Da es bei solchen Kombinationsversuchen, wie Kochmann[101] schon betont hat, nicht nur auf die absoluten Gabengrößen, sondern ganz wesentlich auch auf das gegenseitige Mischverhältnis der beiden Paarlinge ankommt, so legte ich meinen Versuchen ein von Loewe[102] ausgearbeitetes Schema zugrunde, welches gestattet, gleichmäßig alle Mischverhältnisse zu berücksichtigen. In einem Achsensystem ermittelt man dabei Kurven,

---

[91]) Embden, G., E. Grafe u. E. Schmitz: Z. f. phys. Chem. **153**, 67 (1921).
[92]) Herxheimer, H.: Klin. Wschr. I, S. 480 (1922).
[93]) Griesbach, W.: Die Med. Welt **1928**, S. 780.
[94]) Poppelreuter, W.: Arbeitsphysiol. **2**, 507 (1930).
[95]) Marbe, K.: Arch. f. exper. Path. **167**, 104 (1932).
[96]) Rahm, K.: Arch. f. d. ges. Psychol. **86**, 459 (1932).
[97]) Göthlin, G.: Skand. Arch. Phys. **12**, 1 (1902).
[98]) Freeman, N.: Amer. J. of Physiol. **92**, 107 (1930).
[99]) Staub, H.: Biochem. Z. **127**, 255 (1922).
[100]) Burridge, W.: J. of Physiol. **48**, 1 (1914).
[101]) Vgl. Damköhler, D.: Arch. intern. Pharmacod. et Thérap. **23**, 229 (1913).
[102]) Loewe, S. u. H. Muischnek: Arch. f. exper. Path. **114**, 313 (1926).

sogenannte Isobolen, deren Verlauf das kombinatorische Verhalten beider Substanzen erschöpfend charakterisiert.

Als Test zur Bestimmung der Isobole benutzte ich in der 1. Versuchsreihe den diastolischen Herzstillstand. Ich trug im Achsensystem auf der einen Koordinate die Ca-, auf der anderen die Phosphatkonzentration ab und stellte dann in phosphatfreier Ringerlösung diejenige Ca-Sättigung fest, die als Grenzkonzentration gerade zum vollständigen Ventrikelstillstand führte. Ich erhielt dadurch zunächst den Ausgangspunkt der Isobole auf der Ca-Achse; weiter bestimmte ich dann zugehörige Punkte im Mischfeld, indem ich Ringerlösungen verwandte, die im Ca-Gehalt variierten und gleichzeitig wechselnde Mengen von Phosphat enthielten.

Bei der Bereitung der Mischungen ging ich von einer bicarbonatfreien Ringerlösung aus, die 0,65 % NaCl, 0,0075 % KCl und 0,02 % $CaCl_2$ enthielt, in Anlehnung an Froschblutanalysen von Barkan, Brömser und Hahn[103]). Sie wurde beim Gebrauch stets aus 3 Stammlösungen gemischt. Stammlösung I enthielt Kochsalz in doppelter Konzentration, Stammlösung II und III KCl bzw. $CaCl_2$ in vierfacher Sättigung. Wurde II und III zu gleichen Teilen gemischt und ein Teil zum gleichen Volumen von I hinzugefügt, so ergab sich die unveränderte Ringerlösung, wurden Ringerlösungen mit niedrigerem Ca-Gehalt benötigt, so wurden aus III vorher entsprechende Verdünnungen bereitet.

Bei der Herstellung phosphathaltiger Mischungen waren verschiedene Schwierigkeiten zu überwinden, denn eine unverfälschte Wirkung dieses Anions ist nur zu erwarten, wenn nicht gleichzeitig mit dem Phosphatzusatz die Isotonie, die Reaktion oder das Kationenverhältnis verschoben wird, und so mußte danach gestrebt werden, möglichst nur PO_4- gegen Cl-Ionen auszutauschen. Allen drei Forderungen ganz gerecht zu werden, ist nun allerdings nicht möglich, denn wenn man Isoionie anstrebt, ist die Isotonie nicht einzuhalten und umgekehrt, aber der Fehler ist im letzteren Fall gering und kann bei den niedrigen Phosphatzusätzen, die zur Anwendung kamen, wohl vernachlässigt werden.

Es wurden dementsprechend isotonische Stammlösungen von sekundärem und primärem Na-Phosphat hergestellt, die beide genau der doppeltgesättigten Kochsalzlösung entsprachen, und zwar wurde die erste aus Biphosphat bereitet, die zweite wurde durch Zusammengeben berechneter Mengen von Normalphosphorsäure und Biphosphat gewonnen. Zu ihrer Herstellung wurde ein sekundäres Salz verwendet, welches auf dem Wasserbad im eigenen Kristallwasser geschmolzen und getrocknet und dann im Exsikkator über gerade zerfließendem $CaCl_2$ aufbewahrt worden war; es besitzt nach Schoorl[104]) einen zuverlässig konstanten Kristallwassergehalt von $2H_2O$. Die isotonische Konzentration der Lösungen wurde nach Hamburger berechnet und durch Gefrierpunktsbestimmungen nachgeprüft. Sie betrug für

---

[103]) Barkan, G., Ph. Brömser u. A. Hahn: Z. Biol. **74**, 1 (1922).

[104]) Schoorl, N.: Pharm. Weekbl. **61**, 971 (1924).

sekundäres Phosphat 2,36 %, für primäres 2,66 %. Zur Lösung wurde kohlensäurefreies Wasser benutzt. Beide Stammlösungen wurden vor Gebrauch derart gemischt, daß eine Pufferlösung von p_H 7,0 entstand, und erst von diesem Puffer wurde ein entsprechender Teil der Kochsalzlösung zugesetzt.

Die Versuche gestalteten sich folgendermaßen: Wasserfröschen wurde in der üblichen Weise das Herz entnommen. Es wurde nach dem Straubschen Verfahren aufgehängt, und unter mehrmaligem Wechsel der Ringerlösung zunächst gewartet, bis sich das Herz auf die neue Umgebung eingestellt hatte. Die Lüftung geschah mit Sauerstoff. Dann wurde die genau 1 ccm betragende Kanülenflüssigkeit durch das gleiche Volumen der zu prüfenden Mischlösung ersetzt und diese in 2 Minuten betragenden Abständen noch zweimal erneuert. Dann wurde der Erfolg des Lösungswechsels abgewartet. Trat im Verlauf von 15 Minuten voller Kammerstillstand ein, so wurde das als diastolischer Stillstand verbucht, vermochte das Herz seine Tätigkeit aufrechtzuerhalten, oder trat in der angegebenen Zeit Erholung ein, so wurden die Lösungen als unterschwellig angesehen. Das Verhalten des Vorhofes wurde nicht berücksichtigt; er war bei stillstehender Kammer in der Regel noch tätig. Jedes Herz wurde nur einmal benutzt, im ganzen wurden etwa 100 Herzen in dieser Weise verarbeitet.

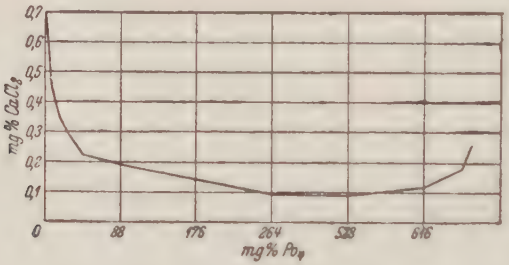

Abb. 1. Das horizontale Mittelstück der Isobole ist verkürzt gezeichnet.

Über die Ergebnisse dieser 1 Versuchsreihe unterrichtet Abb. 1. Auf der Ordinate sind die Ca-Konzentrationen in mg % $CaCl_2$ angegeben, auf der Abszisse die Phosphatsättigung in mg % PO_4. Was das Phosphat anbelangt, so handelte es sich in Wirklichkeit um ein Gemisch, das aus H_2PO_4- und HPO_4-Ionen bestand, während PO_4, die 3. Dissoziationsstufe, beim p_H der Ringerlösung in verschwindet geringen Konzentrationen zugegen war, der Einfachheit wegen ist aber dieser Weg gewählt. Zu betonen ist, daß alle Mischpunkte mit 2—3 Herzen belegt sind.

Die Isobole beginnt auf der Ca-Achse bei 0,7 mg % $CaCl_2$, d. h. in phosphatfreier Ringerlösung ist eine Erniedrigung des Kalkgehalts auf $^1/_{30}$ notwendig, um diastolischen Stillstand herbeizuführen. Verfolgen wir die Isobole nun ins Mischfeld hinein, so sehen wir einen jähen Abfall. Schon bei geringen Phosphatgaben kann man den

Kalkgehalt auf $^1/_{40}$ senken, ohne daß der Herr stehenbleibt, und je höher die Phosphatsättigung steigt, um so mehr senkt sich zunächst die Kurve. Erst bei 350 mg % PO_4 erreicht sie schließlich ihren tiefsten Punkt, ein Mischbereich, in dem selbst eine Senkung des normalen Ca-Gehalts auf $^1/_{200}$ noch nicht zum Stillstand führt. Die Isobole behält diese Lage bis zu sehr hohen Phosphatgaben bei, und erst wenn mehr als 70 % des Kochsalzes durch Phosphat ersetzt sind, in Mischungen, in denen nach Clark[5]) schon der Cl-Mangel eine Rolle spielt, zeigt sie wieder aufsteigende Richtung.

Es ergibt sich aus diesem Verlauf, daß das Phosphat in weitem Umfang das Ca im Herzen zu ersetzen vermag und so kann es nicht zweifelhaft sein, daß das Phosphat unter diesen Versuchsbedingungen nicht nur nicht hemmt, wie Günther und Heubner ja schon beobachtet haben, sondern daß es geradezu die Kalkwirkung verstärkt.

Nachdem die Phosphatwirkung bei Kalkverminderung klargestellt war, untersuchte ich in einer 2. Versuchsreihe die Einwirkung bei Kalkerhöhung, und zwar wählte ich als Test hierfür den bei Kalkvermehrung meist zu beobachtenden systolischen Stillstand. Es stellte sich dabei aber heraus, daß zur Erzielung eines Stillstandes so starke Erhöhungen des Kalkspiegels notwendig waren, daß die Abweichung von der Isotonie nicht mehr außer acht gelassen werden konnte, und so wurde das Verfahren nach dem Vorschlage Loewes[105]) abgeändert, d. h. der Kalkspiegel wurde auf Kosten der Na-Sättigung erhöht. Es hat dies den Vorteil, daß hypertonische Nebenwirkungen ausgeschaltet werden und ändert nicht viel am Kationeneinfluß, denn nach Auffassung nahezu aller Verfasser kommt es vornehmlich auf das relative Verhältnis der letzteren an.

Außerdem erwies sich noch eine zweite Abänderung als zweckmäßig. Wir mußten anfangs die Erfahrung machen, daß bei der großen Mannigfaltigkeit der Ca-Wirkung kaum 2 Versuche einander glichen. Es erwies sich fast als unmöglich, zuverlässige Isobolenwerte zu gewinnen, und die Beseitigung der Schwierigkeit wurde auf verschiedenen Wegen zunächst vergeblich versucht. Schließlich führte aber Zugabe von Mg zum Ziele. Dies Kation, welches teils dem Ca entgegengesetzte, teils gleichlaufende Eigenschaften besitzt, erwies sich als fähig, die Kalkwirkung, soweit der systolische Stillstand in Frage kommt, gesetzmäßiger und zuverlässiger in Erscheinung treten zu lassen, und so wurde sowohl der Ausgangslösung wie sämtlichen Mischungen, hier 7,5 mg % $MgCl_2$ zugesetzt. Weniger erwies sich als unwirksam, mehr führte leicht zum Undichtwerden des Herzens.

Auf Grund der angestellten Überlegungen wurden zum Bereiten der Mischungen 5 Lösungen hergestellt. Stammlösung I enthielt 1,3 % NaCl, II enthielt KCl, $CaCl_2$ und $MgCl_2$ gemeinsam je in der doppelten Konzentration des Nennwertes, III bestand aus einer $CaCl_2$-Lösung von 1,84 %, was isotonisch genau dem doppeltkonzentrierten Kochsalz entsprach und die beiden schon beschriebenen Phosphatlösungen bildeten Stammlösungen IV und V. I und II zu gleichen Teilen gemischt ergab die normale Ausgangslösung. Sollte nun eine Mischung mit

[105]) Loewe, S.: Biochem. Z. 167, 92 (1926).

höherer Kalkkonzentration benutzt werden, so wurde der Kalküberschuß in der Weise herbeigeführt, daß ein bestimmtes Volumen der Kochsalzlösung durch den berechneten Betrag der isotonischen Kalklösung III ersetzt wurde und sollte außerdem Phosphat zugegen sein, so wurde wie in der 1. Versuchsreihe verfahren. Bei diesen letzten Mischungen war darauf zu achten, daß das Phosphat zuerst dem Kochsalz zugesetzt und erst zum Schluß der Ca-Überschuß tropfenweise unter Schütteln zugefügt wurde, sonst kam es zu Trübungen.

Die Straub-Herzen schlugen zunächst wieder eine Zeitlang mit der Ausgangslösung. Dann wurde die Ringerlösung gegen die zu untersuchende Mischung ausgewechselt, diese in Abständen von 2 Minuten zweimal erneuert und darauf das Herz 2 Stunden der Einwirkung dieses Salzgemisches ausgesetzt. Die Zeit wurde so lang gewählt, 1. weil der systolische Stillstand spät eintrat und 2., um das Zeitmoment einer reinen Beschleunigung oder Verlangsamung der Kalkwirkung durch Phosphat auszuschalten. Bei allen Versuchen lag die Temperatur zwischen 16—18°. Trat während des Versuchs endgültiger Stillstand ein, so wurde der Versuch positiv gewertet, trat ein Stillstand ein, der sich spontan zurückbildete, so galt der Versuch als halbpositiv, in allen übrigen Fällen als negativ. Jedes Herz wurde nur einmal verwandt und jeder Mischpunkt mit 5 Herzen besetzt, insgesamt wurden mehr als 100 Herzen auf diese Weise untersucht. Für die Isobolenziehung war die Mehrheit der Versuche entscheidend.

Über die Ergebnisse dieser Versuchsreihe gibt uns Abb. 2 Auskunft, die ganz dem 1. Diagramm entsprechend entworfen ist.

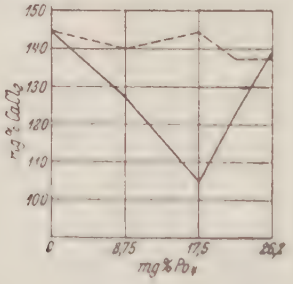

Abb. 2

Im Mischfeld sind diesmal 2 Isobolen eingezeichnet, von denen wir zunächst die gestrichelte betrachten wollen. Sie baut sich auf auf unseren ersten Versuchen, zu denen wir noch nicht frische, sondern bereits etwas gealterte Lösungen verwandten. Die Isobole beginnt auf der Achse bei 145 mg % $CaCl_2$. Es ist dies der gleiche Punkt, von dem die ausgezogene Linie ihren Ausgang nimmt und wir können daraus entnehmen, daß in phosphatfreier Lösung eine Kalkvermehrung auf das Siebenfache notwendig war, um unter unseren Versuchsbedingungen Stillstand herbeizuführen. Verfolgen wir die Isobole ins Mischfeld hinein, so finden wir nur zweimal ein geringes Abweichen nach unten, sonst weist sie im wesentlichen einen zur Grundlinie parallelen Verlauf auf. Kombinatorisch bedeutet das, daß auf der

Achse und im Mischfeld annähernd gleiche Kalkkonzentrationen das Herz stillstellen, das Phosphat trat mit anderen Worten weder hemmend noch fördernd in Erscheinung und so standen wir hier zunächst vor ganz ähnlichen Verhältnissen, wie sie Günther und Heubner schon geschildert haben.

Da es sich bei den benutzten Mischungen um übersättigte Lösungen handelte, so haben wir uns aber mit diesem Ergebnis noch nicht zufrieden gegeben. Wir haben uns vielmehr die Frage vorgelegt, ob die benutzten Lösungen, wenn sie auch klar waren und wenn die Entionisierung nach den Befunden von Dolhaine[28]), Starkenstein[106]) u. a. auch langsam erfolgt, nicht doch schon gealtert, d. h. teilweise entionisiert waren, und so haben wir die Versuche mit durchweg unmittelbar vor der Zugabe frisch bereiteten Mischungen wiederholt. Das Ergebnis der im übrigen ganz gleich angestellten Versuche zeigt die zweite ausgezogene Isobole, sie verläuft nun wirklich ganz anders. Hier finden wir in der Tat eine zweifelsfreie Ausbuchtung nach der Grundlinie, die bei 17,5 mg % PO_4 ihren Tiefpunkt besitzt, und so kommen wir zu dem Schlußergebnis, daß frische Lösungen sich grundlegend anders verhalten und daß Phosphat unter günstigen Bedingungen imstande ist, selbst bei Kalküberschuß noch dessen Wirkung erheblich zu verstärken.

Nachdem die Ergebnisse geschildert sind, können wir uns nun unserer eigentlichen Aufgabe zuwenden und die Frage untersuchen, welche von den drei verschiedenen Zustandsformen des Kalkes als herzwirksame Fraktion anzusehen ist. Prüfen wir daraufhin zunächst den ionalen Kalk, so ist festzustellen, daß eigentlich alles gegen seine Wirksamkeit spricht, denn wie wir eben gesehen haben, wird die Herzwirkung in beiden Versuchsreihen gerade durch dasjenige Ion verstärkt, welches den ionisierten Kalk schwächt. Ganz gleichgültig ob man nun an die Bildung komplexer Verbindungen denkt, oder ob man eine Fällung annimmt oder die Bildung von colloidem Calciumphosphat, der ionale Kalk wird durch Phosphat unter allen Umständen zurückgedrängt werden und so kann man diese Fraktion wohl kaum als die eigentlich wirksame ansehen.

Und ebensowenig können wir nach unseren Versuchen dem kolloiden Kalk die entscheidende Rolle zuerkennen. Gegen diese zweite Fraktion spricht, daß das Phosphat schon in den schwächsten Kalklösungen wirksam ist, wo man noch kaum mit dem Auftreten von kolloidem phosphorsauern Kalk zu rechnen braucht, und umgekehrt bei kalkreichen Mischungen haben wir gesehen, daß frische Lösungen ganz offensichtlich besser wirken wie alte, obwohl sicherlich die Alterung den Übergang in den kolloiden Zustand erleichtert.

Es bleibt nach diesen Überlegungen nun nur noch eine Annahme übrig, nämlich daß die dritte Fraktion, der komplexe Kalk, herzwirksam war und tatsächlich steht diese Erklärung mit den beobachteten Tatsachen besser im Einklang; sie macht erstens verständlich, weshalb nur frische Lösungen wirksam waren, und zweitens

---

[106]) Starkenstein, E.: Arch. f. exper. Path. **77**, 45 (1914).

erklärt sie auch, weshalb Phosphat schon in verdünnten Lösungen Einfluß hatte, und so sind wir per exclusionem geneigt, diese Möglichkeit in Betracht zu ziehen. Freilich führen uns unsere Versuche damit zu einer Auffassung, welche nicht unwesentlich von Heubner[7] [8] [9]) abweicht, welcher auf Grund seiner Ergebnisse in erster Linie an den kolloiden Kalk denkt, aber dieser Widerspruch ist vielleicht nicht so schwerwiegend wie es auf den ersten Blick scheint. Nimmt man nämlich an, daß jede von den drei Kalkformen für sich gesondert pharmakologisch wirksam sein kann, und daß jede Wirkungen eigener Art entfaltet, dann bereitet es kaum Schwierigkeiten sich vorzustellen, daß einerseits das Herz vorwiegend auf den Komplexkalk anspricht und daß andererseits die Taumellähmung auf kolloide Kalkverbindungen zurückgeht und so scheint uns die hier gegebene Deutung durchaus vertretbar.

B. Kalk und Strophanthin.

Nachdem die Phosphatversuche Anhaltspunkte dafür geliefert hatten, daß die Wirkungen des Kalkes aufs Herz in Wirklichkeit vielleicht auf den Komplexkalk zu beziehen sind, haben wir uns nach weiterer Unterstützung umgesehen und haben uns die Frage vorgelegt, ob nicht vielleicht auch die Beziehung zwischen Kalk und den Herzglykosiden von hier aus einer Erklärung zugänglich sein könnte. Tatsächlich führten daraufhin unternommene Versuche zu Ergebnissen, die wir in diesem Sinne deuten möchten.

Bekanntlich bestehen zwischen Kalk und den Digitaliskörpern auffällige Sonderbeziehungen, die in mehreren Arbeiten von Loewi[107]) untersucht worden sind. Nachdem einzelne Beobachtungen [108]) [109]) [110]) [111]) schon vorher gemacht worden waren, hat er zuerst systematisch das Verhältnis zwischen beiden Stoffen am Frosch studiert. Er stellte dabei 1. die Grundtatsache fest, daß eine weitgehende Verwandtschaft besteht und 2. fand er, daß Strophanthin jede Wirksamkeit verliert, wenn man durch gründliches Auswaschen oder Vorbehandlung mit Oxalat nach Möglichkeit den Herzkalk beseitigt.

Mit der Herausarbeitung dieser beiden Gesichtspunkte hat Loewi sich aber nicht begnügt; er hat vielmehr versucht, auch eine Erklärung der Strophanthinwirkung zu geben. Da ihm mit seinen Befunden der Beweis erbracht zu sein schien, daß einerseits ohne Ca eine Strophanthinwirkung nicht möglich ist und daß sie andererseits bei Kalkgegenwart sich restlos mit der des Ca deckt, so glaubte er sich zu dem Schluß berechtigt, daß ihrem letzten Wesen nach Strophanthin- und Ca-Wirkung überhaupt zusammenfallen und hat

[107]) Loewi, O.: Arch. f. exper. Path. **82**, 131; **83**, 366 (1918).
[108]) Clark, A.: Proc. Roy. Soc. Med. **5**, 182 (1912).
[109]) Werschinin, N.: Arch. f. exper. Path. **63**, 386 (1910).
[110]) v. Konschegg, A.: Ebenda, **71**, 261 (1913).
[110]) v. Weizsäcker, V.: Ebenda **81**, 247 (1917).

eine Sensibilisierungstheorie aufgestellt. Sie besagt, daß Strophanthin als solches keine sichtbare Eigenwirkung besitzt. Gelangt es ins Herz, so führt es aber eine Zustandsänderung herbei, die das Herz gegen Ca überempfindlich macht. Nach ihm genügen unter dem Einfluß von Herzglykosiden selbst Spuren des Ions, um Wirkungen zu erzielen, die sonst nur bei übermäßigem Kalkangebot auftreten.

Die Untersuchungen Loewis und vor allem seine Schlußfolgerungen gaben zu zahlreichen weiteren Arbeiten Anlaß, wobei das Grundergebnis, daß zwischen Digitalis und Ca eine auffällige Verwandtschaft besteht, an sich bestätigt wurde [112] [113] [114] [115] Die weit darüber hinausgehenden Folgerungen Loewis aber haben im Gegensatz dazu keine allgemeine Anerkennung erfahren. Loewi hat auf Grund seiner Versuche nicht nur eine Ähnlichkeit des Wirkungsbildes, sondern die völlige Wesensgleichheit unterstellt und hat ferner Ca als notwendige Vorbedingung der Strophanthinwirkung bezeichnet, beide Annahmen sind nicht unbestritten geblieben.

Was das Wirkungsbild angeht, so sind gegen eine völlige Gleichheit drei Punkte angeführt worden, der 1. betrifft die Latenz. Während die Ca-Wirkung schlagartig im Augenblick der Zugabe einsetzt, ist es bei den Herzglykosiden seit je aufgefallen, daß es einer mehr minder langen Zeit bedarf, bis nach der Darreichung die erste Wirkung sichtbar wird. Neuerdings hat sich besonders Fischer [116] mit dieser Erscheinung beschäftigt.

Ein weiterer Unterschied betrifft die Reversibilität. Während die Ca-Wirkung aufs Herz für gewöhnlich leicht rückgängig zu machen ist, konnte Hoffmann [117] bei vergleichenden Versuchen im hiesigen Institut zeigen, daß die einmal eingetretene therapeutische Wirkung verschiedener Digitaliskörper, vor allem die des Digitoxins, auch durch wiederholtes Auswaschen nicht mehr beseitigt werden kann, und das gleiche gilt für den systolischen Stillstand, der nach Fischer sowie Nyiri und Dubois [112] bei Digitoxin und Strophanthin stets endgültig ist.

Nun sind die beiden ersten Unterschiede allerdings noch nicht entscheidend. In bezug auf die Latenzzeit könnte man vorbringen, daß die Umstimmung des Herzens, die es für Ca überempfindlich macht, eine gewisse Zeit zu ihrer Entwicklung bedarf, und im Hinblick auf die Reversibilität könnte man die Meinung vertreten, daß es sich um graduelle Unterschiede einer im Grunde einheitlichen Wirkung handelt. Bei erhöhter Temperatur wird nach Fischer nämlich auch der Ca-Stillstand schwer auswaschbar.

---

[112] Nyiri, W. u. L. Dubois: J. Pharm. a. exper. Ther. **39**, 111 (1930).

[113] Mandelstam, M.: Z. f. d. ges. exper. Med. **51**, 633 (1926).

[114] Tominaga, Isao: Okayama-Igakkai-Zassi, Nr. 419, S. 1187 (1924); zitiert nach fol. japan. pharm. **1**, 1 (1925).

[115] Billigheimer, E.: Z. klin. Med. **100**, 411 (1924); Klin. Wschr. **1929**, I, S. 724.

[116] Fischer, H.: Arch. f. exper. Path. **130**, 111, 194 (1928); **135**, 39 (1928).

[117] Hoffmann, H.: Ebenda **96**, 105 (1923).

Es bleibt aber noch ein dritter Einwand gegen die Annahme voller Wirkungsgleichheit übrig und der ist mit der Loewischen Auffassung schwerer in Einklang zu bringen; er betrifft den unvollständigen Synergismus zwischen Ca und der Digitalisgruppe. Der Auffassung einer im letzten Wesen gleichen Wirkung würde am besten eine wechselseitige kombinatorische Verstärkung entsprechen, und tatsächlich folgen einige Digitaliskörper wie Strophanthin und Digitaligenin diesem Verhalten, andere aber tun das nicht. So fand z. B. Fischer, daß zwischen Ca und Digitoxin nur ein einseitiger Synergismus besteht und Grünwald[118]) beobachtete, daß Scillaren durch Ca und Ca durch Scillaren geradezu gehemmt wird.

Es liegen somit wichtige Gründe vor, die gegen die Wesensgleichheit der Wirkungsbilder sprechen und ebenso erfuhr die 2. Voraussetzung der Loewischen Theorie Ablehnung, seine Annahme, daß Ca eine notwendige und besondere Vorbedingung der Digitaliswirkung sei. Gegenüber Loewis eigenen Versuchen machte Fischer geltend, daß das Auswaschen eine so schwere Schädigung der Herzen einschließt, daß man auf Grund solcher Versuche keine beweiskräftigen Schlüsse mehr ziehen kann. Ferner wurde von Hoffmann gezeigt, daß bei fortgesetztem Auswaschen mit Ca-freier Ringerlösung die Herzwirkung des Digitoxins trotz immer weiterer Senkung des Ca-Spiegels sich anhaltend verstärkte und Tominaga fand, daß eine durch Kalkentzug aufgehobene Strophanthinwirkung auch durch Sr, Ba und sogar allerdings schwächer durch Mg wiederbelebt wird, und selbst hypertonische Zuckerlösungen besitzen nach Pietrkowski[119]) noch die Fähigkeit, die durch Kalkentzug abgeschwächte Strophanthinwirkung wieder auf die ursprüngliche Stärke zu bringen. Loewi[120]) hat diesen Befund allerdings anders gedeutet, aber der reine Tatbestand, daß auch ohne Ca eine Erholung möglich ist, bleibt bei dieser Auseinandersetzung unberührt.

Aus der Übersicht folgt, daß es Loewi bisher nicht geglückt ist, für die Voraussetzungen seiner Theorie Anerkennung zu erringen, und er hat auch keine bestimmte Vorstellung chemischer oder physikalisch-chemischer Art entwickelt, wie man sich die Umstimmung des Herzens zu denken hat.

Seit dem Erscheinen seiner Arbeiten sind nun aber alle die Tatsachen bekannt geworden, auf die wir weiter oben Bezug genommen haben. Zuerst hat sich herausgestellt, daß der körpereigene Kalk zum großen Teil in Komplexverbindungen vorliegt, und dann haben die fremden und eigenen Versuche, die wir im vorigen Abschnitt geschildert haben, Anhaltspunkte dafür ergeben, daß offenbar dieser Kalkkomplex aufs Herz sehr wirksam ist, und so lag es nahe, die Frage aufzuwerfen, ob man die beobachtete Ähnlichkeit zwischen Kalk und den Herzglykosiden nicht mit dem Komplexkalk in Verbindung bringen kann.

[118]) Grünwald, H. F.: Arch. f. exper. Path. **97**, 156 (1923).
[119]) Pietrkowski, G.: Ebenda **85**, 300 (1920).
[120]) Loewi, O.: Pflügers Arch. **187**, 105 (1921).

Um diese Aufgabe der Lösung näher zu bringen, haben wir Versuche unternommen, bei denen wir in gewissem Sinne umgekehrt vorgingen wie Loewi. Während Loewi eine Zustandsänderung des Herzens annimmt, die es für Ca überempfindlich macht, gingen wir von der Frage aus, ob nicht vielleicht umgedreht Digitalis Verschiebungen zwischen den verschiedenen Kalkfraktionen hervorruft, die zu den bekannten pharmakologischen Wirkungen führen. Tatsächlich ergab sich dabei, daß der Herzkalk unter Strophanthin Veränderungen erleidet, und zwar scheint es sich um eine Austauschadsorption zu handeln, bei der sich das Strophanthin an Stelle des Komplexkalkes setzt.

I. Das Verhalten des Herzkalkes unter Strophanthin.

Der Herzkalk wurde in der Weise untersucht, daß bei in Ringerlösung schlagenden Herzen in bestimmten Zeitabständen der Kalkgehalt der Außenflüssigkeit ermittelt und festgestellt wurde, ob sich nach Strophanthinzugabe die Kalksättigung änderte. Ich war mir dabei bewußt, daß ein Gleichbleiben des Kalkspiegels die Frage offengelassen hätte, da es sich bei dieser Versuchsanordnung naturgemäß nur um die Ermittlung des Gesamtkalkes handeln kann und Verschiebungen innerhalb der drei Kalkfraktionen des Herzens denkbar sind, ohne daß sich das nach außen hin bemerkbar macht. Diese Bedenken erwiesen sich jedoch als hinfällig. Tatsächlich ergab sich ein zwar geringer, aber gleichsinniger Ausschlag der Kalkwerte.

Die Untersuchung wurde an griechischen Landschildkröten (Testudo graeca) durchgeführt, die bei einem durchschnittlichen Gewicht von 500 g ein Herz von ziemlich genau 1 g besitzen. Die Versuche fielen in die Zeit von Januar bis März. Die Tiere wurden durch Abschneiden des Kopfes und Ausbohren des Rückenmarks getötet. Darauf wurde das Herz entnommen und sofort in eine mit Ringerlösung gefüllte Petrischale eingebracht, wo das Organ durch eigene Tätigkeit sich nach und nach blutfrei pumpte. Die Ringerlösung wurde im allgemeinen dreimal im Laufe von 20 Minuten gewechselt und mit Sauerstoff durchperlt.

Wenn sich das Herz von Blut soweit entleert hatte, daß die Badflüssigkeit keinen merklichen gelben Schimmer mehr zeigte, wurde es zum Versuch aufgehängt. Es wurde in ein etwa 25 ccm fassendes zylindrisches Glas übergeführt, welches zuvor mit genau 10,5 ccm bicarbonathaltiger Ringerlösung beschickt worden war (Zusammensetzung: Na Cl 0,6 %, K Cl 0,0075 %, $Ca Cl_2$ 0,01 %, $Na H C O_3$ 0,01 %). In dies Gefäß war ein rechtwinklig gebogenes Glasrohr derart eingepaßt, daß der kurze mit einer kleinen seitlichen Öffnung versehene Schenkel auf den Boden des Gefäßes zu liegen kam. An diesem Schenkel wurde die Herzkammer unten mittels einer Seidenschlinge befestigt, oben wurde in den möglichst kurz geschnittenen Aortenstumpf ein Herzhäckchen eingeklemmt, dessen Faden zu einem Schreibhebel führte. Er verzeichnete die Bewegungen des Herzens auf einer berußten Trommel. Der Hebel wurde mit 0,2 g belastet.

Von der Glasröhre aus wurde die Ringerlösung mit Sauerstoff durchperlt.

Die für die Ca-Bestimmungen notwendigen Flüssigkeitsmengen wurden in der Weise entnommen, daß 1 und 2 Stunden nach dem Einhängen des Organs je eine Probe von 2,5 ccm abpipettiert, in ein Zentrifugiergläschen gebracht und verschlossen wurde. Nach 3 Stunden wurde der Versuch abgebrochen und Doppelproben entnommen. Naturgemäß senkte sich bei diesem Vorgehen der Flüssigkeitsspiegel, aber das Gesamtvolumen der Ringerlösung wurde so gewählt, daß auch in der 3. Stunde das Herz völlig in die Lösung eintauchte.

Nach Beendigung des Versuchs wurden die Ansätze gemeinsam aufgearbeitet. Sie wurden zunächst zentrifugiert, um etwa noch vorhandene Blutkörperchen abzutrennen, dann aus jedem Gläschen 2 ccm der überstehenden Flüssigkeit entnommen und diese zusammen mit 2 Leerwerten und 2 Proben der Ausgangslösung der Ca-Bestimmung unterworfen. Die Analysen erfolgten nach Kramer und Tisdall[121] mit den von Clark und Collip[122] vorgeschlagenen Abänderungen. Gegen dies Verfahren sind von Schimmelpfeng[123] gewisse Bedenken geäußert worden. Sie hat darauf aufmerksam gemacht, daß im Serum $^1/_2$ Stunde oft nicht genügt, um eine volle Abscheidung des Kalkes zu erzielen. Bei eigener Nachprüfung fand ich aber, daß dieser Umstand bei den eiweißarmen Lösungen, die hier untersucht wurden, keine Rolle spielen kann, denn nach 24 Stunden analysierte Proben ergaben keine höheren Kalkwerte. Um ganz sicher zu gehen, blieben aber die Oxalatniederschläge stets eine volle Stunde stehen.

Zunächst suchte ich festzustellen, ob bei mehrstündiger Arbeit sich hinsichtlich des Kalkes ein ruhendes Gleichgewicht zwischen Herz und Außenflüssigkeit einstellt oder ob die Tätigkeit mit einer fortlaufenden, immer weiter ansteigenden Kalkabgabe des Herzens einhergeht. Wie die in Tabelle 1 zusammengestellten Versuche er-

Tabelle 1.

Nr.	Datum	Ca-Gehalt der Ringerlösung (in mg%) nach ein-, zwei- und dreistündiger Herztätigkeit			
		0	1	2	3
1	20. I.	3,7	4,1	4,1	4,1
2	23. I.	3,7	4,0	4,1	4,1
3	26. I.	3,7	4,2	4,2	4,2
4	28. I.	3,7	4,3	4,5	4,8
5	2. II.	3,7	4,0	4,0	4,1
6	9. II.	3,7	4,2	4,2	4,2

kennen lassen, ist das erstere der Fall. Das Herz gibt an die Ringerlösung, die 0,01 % $CaCl_2$ und dementsprechend 3,7 mg % Ca enthielt, in der 1. Stunde zwar etwas Kalk ab; der so erreichte

[121]) Kramer, B. u. F. Tisdall: J. of biol. Chem. **47**, 475 (1921).
[122]) Clark, P. u. B. Collip: Ebenda **63**, 461 (1925).
[123]) Schimmelpfeng, P.: Biochem. Z. **183**, 42 (1927).

Wert bleibt aber dann in der 2. und 3. Stunde unverändert, so daß man, wie ich glaube, berechtigt ist, nach 1 Stunde einen festen Ausgangswert vorauszusetzen. Die einzige Ausnahme bildet Versuch 4, hier stieg der schon nach der 1. Stunde hohe Wert im weiteren Verlauf immer mehr an, so daß ein Gleichgewicht nicht eintrat. Dies Herz hat im Gegensatz zu allen übrigen unter der mehr als doppelten Belastung von 0,5 g gearbeitet.

Nachdem über die normalen Verhältnisse Klarheit gewonnen war, wurde in der 2. Versuchsreihe am Ende der 2. Stunde 0,1—1,0 mg Strophanthin in die Badflüssigkeit zugegeben und das Herz 1 Stunde dieser Einwirkung ausgesetzt. Zur Verwendung kam g-Strophanthin. kristallisat. Merck. Es war dabei darauf zu achten, daß mit der Zugabe nicht die Kalksättigung verändert wurde. Dies wurde in den ersten Versuchen so zu erreichen versucht, daß Mengen von etwa 0,5 mg in fester Substanz vorsichtig am Glasrand in die Lösung eingeführt wurden. Das Verfahren hatte aber den Nachteil, daß dabei 1. feste Teilchen auf die Herzwand selbst gelangen konnten und 2. konnte die mäßig schäumende Lösung kleine Kristalle auch der Lösung entziehen. In den späteren Versuchen wurde daher das Strophanthin vorgelöst. Die Substanz wurde in einem kleinen Wägegläschen eingewogen und kurze Zeit vor der eigentlichen Zugabe mit wenigen, der Badflüssigkeit entnommenen Teilstrichen eines ccm gelöst, wobei das geschlossene Gefäß eine Verdunstung verhinderte.

Tabelle 2.

Nr.	Datum	Nach der 2. Std. mg Strophanthin	Ca-Gehalt der Ringerlösung (in mg%) nach ein-, zwei- und dreistündiger Herztätigkeit			
			0	1	2	3
1	16. I.	(0,5)	3,7	—	3,9	4.3
2	17. I.	(0.5)	3,7	4,2	4,2	4,7
3	24. I.	(0,5)	3,7	4,1	4,1	4,6
4	30. I.	(0,5)	3,7	4,2	4,2	4,6
5	8. II.	0,550	3,7	4,2	4,2	4,6
6	13 II.	0,998	3,7	4,0	4,1	4,5
7	14. II.	0,364	3,7	4,1	4,1	4,5

Wie die Versuche der Tabelle 2 zeigen, ist zunächst auch hier ein Ausgleich festzustellen; die in der 1. und 2. Stunde ermittelten Werte stimmen gut überein. Das Hauptergebnis aber ist, daß sich unter der Einwirkung des Strophanthins in der 3. Stunde der Kalkspiegel hebt. Der Anstieg ist zwar nicht groß, er beträgt im Höchstfall 0,5 mg %, aber er liegt wohl außerhalb der Fehlgrenze und war in allen Fällen deutlich, nicht nur in den Versuchen, bei denen Strophanthin unmittelbar gegeben wurde — sie sind durch eingeklammerte Strophanthindosen kenntlich gemacht —, sondern auch dort, wo die Substanz in Lösung zur Verwendung kam.

Tabelle 3.

Nr.	Datum	Tier g	Nach der 2. Std. mg Strophanthin	Ca-Gehalt der Ringerlösung (in mg%) nach ein-, zwei- und dreistündiger Herztätigkeit			
				0	1	2	3
1	16. II.	570	0,160	3,7	4,1	4,1	4,3
2	20. II.	420	1,138	3,7	4,2	4,2	4,4
3	21. II.	480	0,093	3,7	4,1	4,2	4,1
4	23. II.	485	0,625	3,7	4,0	4,0	4,2
5	24. II.	355	0,656	3,7	4,1	4,0	4,2

Wir hielten demgemäß das Ergebnis für gesichert und waren nicht wenig überrascht, als ein weiterer Versuch, der nach Eintreffen einer neu aus Italien kommenden Schildkrötensendung angestellt wurde, nur einen unsicheren Ausschlag gab. Zunächst dachten wir, daß die Strophanthingabe zu klein gewesen sein könnte, denn es war der erste Versuch, in dem weniger als 0,2 mg gegeben worden waren, weitere Versuche mit wechselnden Gaben, teilweise auch in mehrfacher Verabreichung, hatten jedoch kein anderes Ergebnis. Wie aus Tabelle 3 hervorgeht, waren diese Versuche zwar nicht völlig negativ — abgesehen vom dritten mit der kleinsten Gabe —, aber die Ausschläge waren so gering, daß sie allein nicht mehr als beweiskräftig angesehen werden konnten.

Da die Tiere aus dem Süden kamen, so schien es nicht ausgeschlossen, daß eine jahreszeitliche Schwankung der Strophanthinempfindlichkeit vorlag [124] [125] [126] [127] und so tauchte die Frage auf, ob vielleicht eine geringe Abänderung der allgemeinen Versuchsbedingungen eine Umstimmung herbeiführen, und dem Herzen seine alte Anspruchsfähigkeit wiedergeben könnte. In dieser Absicht wurde die Ringerlösung einigen Veränderungen unterworfen. Zunächst wurde durch Senken und Erhöhen der Bicarbonatsättigung ein Einfluß des

Tabelle 4.

Nr.	Datum	Tier g	Nach der 2. Std. mg Strophanth.	Ca-Gehalt der Ringerlösung (in mg%) nach ein-, zwei- und dreistündiger Herztätigkeit				Abänderung der Ringerlösung
				0	1	2	3	
1	28. II.	525	0,628	3,7	4,0	4,0	4,2	0,0 % $NaHCO_3$
2	2. III.	410	0,715	3,7	4,1	4,2	4,1	0,02 % „
3	6. III.	590	0,640	3,7	4,1	4,1	4,2	0,015% „
4	13. III.	380	0,318	3,7	4,2	4,2	4,4	0,005% „
5	14. III.	520	0,564	3,7	4,3	4,3	4,4	10 mg % $MgCl_2$
6	22. III.	415	0,485	3,7	4,0	—	4,1	5 mg % „

[124] Straub, W.: Heffters Handb. d. Pharm. II, S. 1355.
[125] Joachimoglu, G.: Arch. f. exper. Path. **91**, 156 (1921).
[126] Hoekstra, R.: Ebenda **162**, 649, 663 (1931).
[127] Vanderkleed, C. u. P. Pittenger, sowie C. Haskell: zitiert nach J. Munch, Bioassays. handbook of quant. Pharmac. London 1931.

p_H auszuschalten versucht, in zweiter Linie wurde daran gedacht, daß das Fehlen des normalerweise vorhandenen Mg von Bedeutung sein könnte, aber wie Tabelle 4 zeigt, brachte keine dieser Abänderungen ein besseres Ergebnis.

Dagegen führte ein anderer Weg zum Ziel. Es stellte sich heraus, daß bei den Herzen dieser Sendung, die augenscheinlich schwerer blutfrei zu spülen waren, gerade dieser Umstand bedeutsam war. Wurde an Stelle des bisher geübten dreimaligen Wechsels der Ringerlösung die Spülflüssigkeit sechs- bis siebenmal erneuert, so waren mit Strophanthin wieder deutliche Ausschläge zu erzielen. Worauf das beruhen könnte, ist nicht mit Sicherheit anzugeben, aber es soll betont werden, daß nach Ausweis des Mechanogramms die Herzen nach der Spülung sich keineswegs in einem hypodynamen Zustand befanden. In Tabelle 5 sind die Versuche dieser Art zusammengestellt. Sie geben im Zusammenhang mit denen der Tabelle 2 unseres Erachtens die Gewähr, daß tatsächlich unter Strophanthin die Kalksättigung steigt.

Mit der Feststellung, daß der Kalkspiegel in der Umgebungsflüssigkeit des Herzens ansteigt, ist zunächst aber nicht bewiesen, daß im Kalkbestand des Herzens selbst unter Strophanthin eine Veränderung vor sich geht. Eine Anreicherung kann auch dadurch zustande kommen, daß das Herz sich mit Wasser belädt, und tatsächlich wird von mehreren Forschern diese Meinung vertreten.

Tabelle 5.

Nr.	Datum	Tier	Nach der 2. Std.	Ca-Gehalt der Ringerlösung (in mg%) nach ein-, zwei- und dreistündiger Herztätigkeit			
		g	mg Strophanthin	0	1	2	3
1	23. III.	440	0,864	3,7	4,0	4,0	4,4
2	24. III.	430	0,739	3,7	4,1	4,1	4,5
3	28. III.	450	0,935	3,7	4,0	3,9	4,3
4	29. III.	415	0,620	3,7	4,0	4,0	4,4
5	30. III.	435	0,480	3,7	3,9	4,0	4,4

Pietrkowski[128]) bestimmte die elektrische Leitfähigkeit im Herzinhalt des Frosches. Er fand unter Strophanthin eine Abnahme des Widerstandes und schloß daraus auf einen Wasserverlust der Ringerlösung. Dieser Schluß ist aber nicht zwingend. Da die verbesserte Leitfähigkeit nur eine erhöhte Elektrolytsättigung beweist, so kann man ebensogut an eine vermehrte Salzabgabe denken, und diese Erklärung erscheint uns sogar wahrscheinlicher, denn die Herztätigkeit ist zweifelsohne mit chemischen Spaltungsvorgängen verknüpft und bei anderen Versuchen, bei denen er gleichzeitig die Herzgewichte ermittelte, kommt Pietrkowski selbst zu dieser Deutung.

Ein anderer Weg wurde von Schott[129]) eingeschlagen. Er bestimmte den Wassergehalt von normalen und strophanthinvergifteten

[128]) Pietrkowski, G.: Pflügers Arch. **172**, 497 (1918).
[129]) Schott, A.: Arch. f. exper. Path. **114**, 32 (1926).

Froschherzen, indem er die abgeschnittenen Herzkammern bei 110° trocknete, und stellte dabei fest, daß die vergifteten Tiere eine um durchschnittlich 2,7 % höhere Gewichtsabnahme aufwiesen. Daraus schloß er auf eine Strophanthinquellung, aber seine Ergebnisse scheinen mir gleichfalls nicht überzeugend. Daß Eiweißkörper geringe Mengen von Wasser auch bei 110° zäh festzuhalten vermögen, ist bekannt, und da er seine Organe als Ganzes unzerrieben verarbeitet hat, so ist es unseres Erachtens selbst bei Trocknung bis zur Gewichtsbeständigkeit nicht ausgeschlossen, daß noch Wasser zugegen war. Die Unterschiede in den Wasserwerten beweisen daher nicht unbedingt, daß wirklich Wasser von außen aufgenommen worden war, es könnte auch eine Zustandsänderung vorgelegen haben, die die Abgabe erleichterte. Am Herzen wird ein strenger Beweis wohl nur zu führen sein, wenn man unter Strophanthin unmittelbar eine Gewichtszunahme feststellen kann.

Nicht am Herzen, sondern am Muskel und in Modellversuchen haben ferner Neuschloß[130]) sowie Riesser und Neuschloß[131]) den Nachweis zu führen versucht, daß den Digitaliskörpern unter gewissen Bedingungen eine quellfördernde Wirkung zukommt. Sie arbeiteten an Gelatinelösungen, die mit Phosphat auf ein bestimmtes d_H eingestellt waren, und tatsächlich fanden sie unter Strophanthin eine Viskositätszunahme besonders im sauren Bereich. Beide Verfasser, die in reiner Form die Anschauung vertreten, daß die Muskelkontraktion auf eine Säurequellung zurückzuführen ist, nahmen daraufhin an, daß durch Strophanthin bei saurer Reaktion die Quellungskontraktur des Herzens gefördert wird, aber gegen ihre Ansicht sind zwei Einwände möglich. Durch Versuche von Lundsgaard[132]) sowie von Embden[133]) ist 1. festgestellt, daß die meisten Reaktionen, die die Muskelkontraktion begleiten, nicht zu einer Säuerung, sondern zu einer p_H-Verschiebung nach der alkalischen Seite führen. Die bei stark saurer Reaktion angestellten Quellversuche können deshalb zur Beurteilung der Strophanthinwirkung schwerlich herangezogen werden. Aber auch die wesentlich geringere Quellförderung, die in neutralem und alkalischem Bereich festgestellt wurde, kann nicht ohne weiteres aufs Herz bezogen werden, denn die Versuche wurden in Gegenwart beträchtlicher Phosphatmengen ausgeführt, eines Ions, welches stark entquellende Wirkungen besitzt. Die scheinbar quellende Wirkung des Strophanthins könnte somit auf einer Phosphathemmung beruhen und tatsächlich fand Pietrkowski[134]) bei ähnlichen Versuchen, die mit Gelatine ohne Phosphat angestellt wurden, stets nur eine Quellungshemmung. Außerdem ist beobachtet worden[135])[136]), daß Stro-

[130]) Neuschloß, S. M.: Pflügers Arch. **197**, 235 (1922).
[131]) Riesser, O. u. S. Neuschloß: Arch. f. exper. Path. **94**, 190 (1922).
[132]) Lundsgaard, E.: Biochem. Z. **217**, 162 (1930); **227**, 51 (1930); **230**, 10 (1931).
[133]) Embden, G.: Klin. Wschr. **1930** II, S. 1337.
[134]) Pietrkowski, G.: Biochem. Z. **98**, 92 (1919).
[135]) Straub, H. u. Kl. Meier: Ebenda **111**, 67 (1920).
[136]) Baade, K.: Arch. f. exper. Path. **114**, 137 (1926)

phanthin die roten Blutkörperchen gegen Säure- und Hypotonieschädigungen widerstandsfähiger macht, was ebenso im Sinne einer Grenzflächenabdichtung spricht.

Es lassen demnach also weder die Beobachtungen am Herzen, noch die am Modell es als sicher erscheinen, daß den Digitaliskörpern am Herzen eine quellfördernde Wirkung zukommt und selbst, wenn wir die von Schott und Pietrkowski mitgeteilten Befunde im Sinne der Verfasser werten, so würde sich nur eine Wasseraufnahme von 3 % ergeben, während in den eigenen Versuchen die Kalksättigung um 8—10 % steigt, und so wird man folgern dürfen, daß dem beobachteten Kalkanstieg in der Rinderlösung eine Verschiebung im Kalkbestand des Herzens selbst zugrunde liegt; es erhebt sich damit die Frage, welcher Natur der Vorgang ist, der zur Abscheidung von Ca in die Außenflüssigkeit führte.

II. Chemische Deutung der gefundenen Strophanthinwirkung.

Nach unseren einleitenden Ausführungen wird das Verhältnis zwischen den drei Herzkalkfraktionen durch zwei Gleichungen geregelt. Daraus folgt, daß theoretisch zwei Wege offen stehen, auf denen die Strophanthinwirkung zustande gekommen sein kann: Das Glykosid kann entweder den Dissoziationszustand verändert haben oder es kann den Adsorptionszustand beeinflußt haben.

Zunächst wollen wir die Frage prüfen, ob eine Verschiebung des Dissoziationsgleichgewichtes vorgelegen haben könnte. Überlegen wir uns die Möglichkeiten, die dem Strophanthin hier zu Gebote stehen, so liegt es auf den ersten Blick vielleicht nahe, an eine Fermentwirkung zu denken, bei eingehender Betrachtung verliert aber diese Annahme sehr an Wahrscheinlichkeit. Zunächst ist zu beachten, daß bei derartigen chemischen Umsetzungen die Gleichgewichtskonstante gewahrt bleibt [43]). Jeder Katalysator, der die Reaktionsgeschwindigkeit in einer Richtung steigert, fördert im gleichen Verhältnis die umgekehrte Reaktion, und so kann es sich von vornherein nur um eine Beschleunigung oder Verlangsamung der zum Gleichgewicht führenden Einstellungsvorgänge handeln. Nun wissen wir aber von der Oxalatfällung des Blutkalkes und von der Citratentionisierung her, daß Auf- und Abbau des Komplexes sehr rasch vor sich geht, und so ist von einer fermentativen Beschleunigung kaum ein sichtbarer Erfolg zu erwarten. Ähnliches gilt aber auch für die „negative" Katalyse. Da wir nach Einbringen der Herzen in Ringerlösung stets 2 Stunden zugewartet haben, ehe Strophanthin gegeben wurde, so wird man umgekehrt auch annehmen dürfen, daß die Gleichgewichtseinstellung längst beendet war, ehe sich ein verlangsamender Einfluß überhaupt bemerkbar machen konnte.

Es gibt aber noch einen anderen Weg, auf dem Strophanthin das Dissoziationsgleichgewicht stören kann, er würde zu einer starken Ionenvermehrung führen. Angenommen Strophanthin wäre imstande, sich mit einem der Begleitionen zu verbinden, die mit Ca den Komplex

aufbauen, derart daß es zur Fällung des betreffenden Paarlings käme, so würde dadurch das Gleichgewicht zerstört. Das Ionenprodukt wird der Konzentration des Komplexes nicht mehr die Waage halten können und eine Spaltung wird eintreten. Dabei werden 1. Ca-Ionen frei, aber auch stets derjenige Paarling, welcher vom Strophanthin abgefangen wird, und so kann man sich den Vorgang bis zur vollen Ionisierung des Ca fortgesetzt denken.

Nun ist die Möglichkeit zu einer experimentellen Entscheidung gegeben. Falls dem Strophanthin eine derartige Wirkung zukäme, müßte es im Serum zu einer Ionenübersättigung kommen, und wir haben daher versucht festzustellen, ob sich nach Einwirkung von Strophanthin Übersättigungserscheinungen nachweisen lassen. Frischgewonnenes Pferdeserum wurde zuerst mehrere Stunden bei Körpertemperatur der Einwirkung von Strophanthin ausgesetzt und dann auf -70^{0} im Äther-Kohlensäureschneegemisch abgekühlt. Die Sera wurden im Verlauf mehrerer Stunden unter stetigem Rühren mehrmals langsam ausgefroren und wieder aufgetaut, dann abzentrifugiert und Ca-Analysen ausgeführt. Die Bestimmungen erfolgten nach dem Verfahren von Clark und Collip, doch wurde nach der Oxalatfällung 12 Stunden gewartet. Da bei einer solchen Abkühlung bis unter den eutektischen Punkt im Falle einer Übersättigung sich das Lösungsgleichgewicht einstellt, ähnlich wie beim Animpfen einer Mutterlauge mit einem Kristall, so war zu erwarten, daß nach dem Ausfrieren die Sera einen geringeren Ca-Gehalt aufwiesen, aber wie Tabelle 6 erkennen läßt, trat eine derartige Verminderung nicht ein.

Tabelle 6.

Nr.	Datum	Serumkalk vor und nach Strophanthinbehandlung			
		A (frisch) mg %	B (nach 9 stünd. Expos. b. 38°) mg %	Strophanthin-zugabe zu 2) mg in 10 ccm	C nach anschließendem Ausfrieren
1	5. XII.	11,3	1) 11,2 2) 11,3	4,0	1) 11,2 2) 11,2
2	8. XII.	12,0	1) 12,0 2) 12,0	7,0	1) 11,9 2) 12,0
3	12. XII.	11,8	1) 11,8 2) 11,7	10,0	1) 11,7 2) 11,7

In Spalte A sind die Kalkwerte des frischen Serums, unter B die Werte nach der Exposition, unter C der nach dem Ausfrieren ermittelte Kalkgehalt verzeichnet, und alle diese Zahlen stimmen überein. Strophantinsera verhalten sich also genau wie ohne Zusatz dem gleichen Verfahren unterworfene Proben.

Damit sind wohl alle Möglichkeiten erschöpft, den Kalkanstieg aus einer Verschiebung des Dissoziationsgleichgewichtes zu erklären, und so müssen wir uns fragen, ob eine Änderung des Adsorptionszustandes warscheinlicher ist. Von den verschiedenen Wegen, auf denen man sich eine Vermehrung des gelösten Komplexkalkes zustandegekommen denken kann, scheint mir der einer Austauschadsorption hier

der nächstliegende, und wenn wir von dieser Annahme aus die Literatur sichten, so erhält diese Vermutung eine starke Stütze.

Mit dieser Auffassung im Einklang stehen 1. die chemisch-physikalischen Eigenschaften der Digitaliskörper, denn bei den Versuchen von Trendelenburg[137]) und Clark[138]) erwiesen sich alle untersuchten Glykoside als oberflächenaktiv, das Bestreben, sich an Grenzflächen anzureichern, ist also vorhanden. Ferner wurde von Clark und Walter[139]) festgestellt, daß die Herzglykoside negative Ladung tragen, sie sind somit gleichsinnig geladen wie der Komplexkalk, was unserer Vorstellung ebenfalls günstig ist.

Gut in Übereinstimmung mit der Annahme einer Austauschadsorption stehen ferner zahlreiche Beobachtungen, die sich auf den Bindungsmechanismus der Digitaliskörper beziehen. Bei einem derartigen Vorgang ist zu erwarten, daß 1. die fixierte Menge in Abhängigkeit steht von der in der Umgebungsflüssigkeit herrschenden Sättigung, und tatsächlich beeinflußt die angebotene Konzentration nach Straub[140]) das Maß der Giftbindung in hohem Maße. 2. Wird eine adsorptive Verdrängung um so leichter erfolgen, je fester die neue Adsorptionsbindung ist[44]), genau wie sich auf dem Gebiete einfacher chemischer Reaktionen die unlösliche Verbindung bevorzugt bilden wird, und wirklich finden wir bei der Digitalisvergiftung diese Gesetzmäßigkeit wieder. Nach Fischer[116]) besteht eine deutliche Beziehung zwischen notwendiger Giftsättigung und Haftfestigkeit. Die vergleichende Untersuchung verschiedener Glykoside und Genine ergab, daß die erforderlichen Grenzkonzentrationen um so niedriger lagen, je fester die Fixation im Herzen erfolgt. Schließlich wird es bei jedem Austauschvorgang darauf ankommen, in welchem Verhältnis die Konzentration des neu hinzutretenden Stoffes zur Sättigung des bereits adsorbierten Körpers steht. Eine Verminderung des letzteren wird den Austausch begünstigen[44]), und in der Tat scheint dies bei Digitoxin der Fall zu sein; denn Fischer beobachtete, daß bei Erniedrigung des Ca-Gehalts die Fixationszeit des Digitoxins sich verkürzte, und vielleicht ist auch der auffällige Befund, den wir bei unseren eigenen Versuchen machten, daß nämlich nach öfters wiederholtem Auswaschen des Herzens die Kalkausschläge unter Strophanthin größer wurden, in diesem Sinne eine Erklärung zugänglich.

Eine 3. Gruppe von Beobachtungen bezieht sich zwar nicht auf Herz, aber sie weist in die gleiche Richtung. Von mehreren Forschern[115]) [111]) [142]) ist festgestellt worden, daß nach Digitalis der Blutkalkspiegel ansteigt, und zwar scheint der Steigerung eine kurzfristige Senkung vorauszugehen. Nimmt man nun an, daß die Digitalissub-

---

[137]) Trendelenburg, P.: Arch. f. exper. Path. **61,** 256 (1909).
[138]) Clark, A.: J. Pharm. a. exper. Therap. **5,** 215 (1913).
[139]) Walter, M.: Biochem. Z. **92,** 267 (1918).
[140]) Straub, W.: Biochem. Z. **28,** 392 (1910).
[141]) Edens: Die Digitalisbehandlung. Urban & Schwarzenberg, 1916.
[142]) Ginsburg, P.: Arch. f. exper. Path. **128,** 126 (1928).
[143]) Weese, H.: Ebenda **135,** 228 (1928); **141,** 329 (1929).
[144]) Oppenheimer, E.: Biochem. Z. **55,** 134 (1913).

stanzen nicht ausschließlich vom Herzen aufgenommen, sondern auch anderweitig gespeichert werden, was nach Weese[143]) sicherlich in weitestem Ausmaße erfolgt, und nach Oppenheimer[144]), Hoekstra[126]) und Brücke[145]) auch fürs Blut anzunehmen ist, so lassen sich diese Verschiebungen im Blutspiegel ebenfalls in unserem Sinne erklären. Zunächst wird das Glykosid ins Blut gelangen. Es wird durch Austauschadsorption dort den eiweißgebundenen Kalk in Lösung bringen, ein Teil des Komplexkalkes wird in die Gewebe übertreten und zunächst der Blutkalk sinken. Bei weiter fortschreitender Vergiftung gelangt das Glykosid dann in die Gewebe; es wird auch dort den gebundenen Kalk teilweise aus seinen Bindungen verdrängen und nun wiederholt sich derselbe Vorgang umgekehrt. Der überschüssig gelöste Komplexkalk tritt ins Blut zurück und in der zweiten Phase steigt der Blutkalk über die Norm. Die Annahme einer Austauschadsorption scheint mir somit nach allen Seiten gut begründet.

III. Pharmakologische Deutung der gefundenen Strophanthinwirkung.

1. Strophanthin und Calciumionen.

Nachdem die chemische Seite der Kalkabgabe klargestellt ist, kommen wir nun zu der entscheidenden Frage: Kann man die pharmakologische Ähnlichkeit zwischen Kalk und Strophanthin mit der gefundenen Kalkverschiebung in Zusammenhang bringen, wir wollen sie in folgendem für die beiden Kalkformen Komplex und Ion gesondert prüfen. Betrachten wir zunächst das Ion, so können wir aus der Dissoziationsgleichung entnehmen, daß die adsorptive Veränderung wirklich zu einer gewissen Ionenvermehrung führen wird; denn die Vermehrung des gelösten Komplexkalkes, vergrößert den Nenner, was zwangsläufig eine Vergrößerung des Zählers, d. h eine gewisse Spaltung nach sich zieht.

Scheinbar ist damit die Vorbedingung erfüllt, um eine Erklärung im Sinne einer Ionenwirkung zu geben, betrachten wir aber die quantitativen Verhältnisse, so wird diese Annahme sehr unwahrscheinlich. Nach Straub[146]) ist 1 die fixierte Glykosidmenge gering, die Verschiebung im Nenner ist also nicht groß 2 ist das Komplexion wenig dissoziiert, es wird also ein geringer Zerfall genügen, um das Gleichgewicht wiederherzustellen, und schließlich werden Gegenregulationen einsetzen. Es wird einmal zu einem Abfluß des überflüssigen Kalkes nach außen kommen, und andererseits werden sich Pufferwirkungen bemerkbar machen, das Herz wird sein p_{Ca} aufrechtzuerhalten trachten.

Frischer Herzmuskel hat einen Gesamtkalkgehalt von etwa 15 mg-% [45]) [146]). Nehmen wir an, daß auch die Verteilung auf die drei Fraktionen die gleiche ist, so wird es auch nicht annähernd zu einer Verdoppelung der Ca-Ionensättigung kommen, selbst wenn durch Strophanthin die gesamte dritte Fraktion in Freiheit gesetzt wurde.

[145]) Brücke, F.: Arch. f. exper Path. **175**, 92 (1934).
[146]) Gley, E. u. A. Richaud: J. d. Phys. Path. **12**, 673 (1910).

Nun ist aber seit langem bekannt, daß der Kalkgehalt der Ringerlösung mehr als verfünffacht werden muß, um tonische Stillstände zu erzeugen; Strophanthin- und Ionenwirkung gleichzusetzen, ist in diesem Sinne daher wohl ausgeschlossen.

Nun gibt es aber noch einen anderen Weg, der es vielleicht gestattet, am Ca-Ion in abgewandelter Form festzuhalten. Bei der Komplexspaltung werden ja nicht nur Ca-Ionen frei, sondern stets auch die Begleitionen, die am Aufbau der Verbindung beteiligt sind, und so eröffnet sich der Ausweg, die Strophanthinwirkung als eine kombinatorisch durch andere Ionen verstärkte Ca-Wirkung zu erklären.

Legen wir uns diese Frage vor, ob diese Erklärung mehr Wahrscheinlichkeit für sich hat, so ist das in gewissem Umfange zu bejahen, denn Phosphat und Fettsäuren besitzen ja beide die Fähigkeit, die Herzwirkung des Kalkes kombinatorisch zu verstärken. Das quantitative Mißverhältnis zwischen freiwerdenden Ionenbetrag und Stärke der Wirkung wäre demnach tatsächlich nicht so groß, aber behalten wir im Auge, wie unbedeutend im Grunde die Menge des Komplexkalkes ist, die durch Austauschadsorption in Freiheit gesetzt wird, und wie geringfügig die Spaltung, die zur Wiederherstellung des Gleichgewichtes ausreicht, dann klaffen auch jetzt noch Unterschiede, die man nicht ohne weiteres übersehen kann.

Außerdem würden aber auch noch andere Schwierigkeiten bestehen bleiben. Bei einer solchen Deutung könnte man sich zunächst schwer vorstellen, daß es zu einer nachhaltigen Wirkung kommt, denn die neugebildeten Ionen werden das Bestreben zeigen, nach außen abzuwandern, und 2. wäre auch die kumulierende Wirkung schwer zu erklären, die für die Digitaliskörper charakteristisch ist. Es wäre vielmehr eher eine Gewöhnung zu erwarten; denn wenn nach fester Bindung einer gewissen Menge von Digitalis dem Herzen erneut Gift angeboten wird, so wird kaum noch weiterer Komplexkalk durch Verdrängung in Freiheit gesetzt werden können.

2. Strophanthin und Komplexkalk.

Nach Ablehnung der ersten Deutungsmöglichkeit bleibt jetzt nur noch der Weg übrig, die beobachtete Verwandtschaft auf den Komplexkalk zu beziehen, und nachdem die Möglichkeit dieser Vorstellung im ersten Teil der Arbeit dargetan ist, hat diese Betrachtungsweise sicher nichts Ungewöhnliches mehr.

Kalk und Strophanthin haben eine ganz ähnliche Wirkung. Nun hat aber das Strophanthin chemisch mit dem Ion fast nichts gemein, dagegen viel mit dem Komplex: Beide Stoffe sind hochmolekulare Verbindungen, beide enthalten wahrscheinlich lipoide Bestandteile aus der Steringruppe im Molekül, beide besitzen negative Ladung, beide haben große Neigung, adsorptiv an Eiweiß heranzutreten, und da Strophanthin anscheinend, wenn es im Herzen wirkt, die Stelle des Komplexes einnimmt, so scheint mir in allen diesen Ähnlichkeiten eine weitere Stütze für die Annahme gegeben, daß der Komplex die herzwirksame Form darstellt.

Legen wir uns nun noch die Frage vor, ob der in Freiheit gesetzte Komplex selbst Träger der Digitaliswirkung ist, oder ob den Herzglykosiden eine Eigenwirkung zuzuschreiben ist ‚die nur weitgehend der des Komplexes gleicht, so scheint mir die letzte Erklärung die naheliegendere. Gegen die erste Auffassung sprechen einerseits alle die Bedenken, die gegen die völlige Wesensgleichheit der Digitalis- und Ca-Wirkung oben schon vorgebracht worden sind, andererseits aber auch die Gründe, die eben gegen die Annahme einer Ionenwirkung geltend gemacht worden sind.

Wir kommen somit zu dem Schluß, daß die Glykosidwirkung der des Komplexkalkes nur in hohem Maße ähnelt, und da beim Kalk eine an den Grenzflächen sich abspielende Oberflächenwirkung vermutet wird, so führt die Vorstellung der adsorptiven Verdrängung für die Digitaliskörper zu einer ähnlichen Annahme. Gegen eine derartige Auffassung der Digitaliswirkung sind vor kurzem von Fischer[116]) eine Reihe von Bedenken geäußert worden. Erstens schließt er aus Dialyseversuchen und aus der Tatsache, daß die Digitoxinwirkung in den ersten Sekunden rückgängig gemacht werden kann, darauf, daß die Glykoside nicht an der Oberfläche haften bleiben, sondern die Grenzschichten passieren. Zweitens scheint ihm der Umstand, daß es sich bei der Digitaliswirkung um einen in vieler Hinsicht spezifischen Vorgang handelt, im Widerspruch mit der Annahme einer Adsorptivwirkung zu stehen. Drittens spricht nach Fischer die feste Fixation für eine echte chemische Reaktion und viertens findet er bei der Fixationszeit einen Temperaturkoëffizienten von 2—3, was ihm ebenfalls eine Adsorption auszuschließen scheint.

Diesen Überlegungen kann folgendes entgegengehalten werden: 1. ist das Bestehen einer Membranphase durch die angeführten Versuche nicht bewiesen. Die Dialyseversuche zeigen unseres Erachtens nicht viel mehr ‚als daß die Glykoside in wässeriger Lösung eine gewisse Teilchengröße nicht überschreiten, und die Reversibilität der Vergiftung in den ersten Sekunden ist eine notwendige Folge der Langsamkeit des Fixationsvorganges, die eine Phase mit zunächst unterschwelliger Fixation geradezu erwarten läßt. Auch die Spezifität der Digitalisvergiftung ist unsere Erachtens kein Hinderungsgrund, eine Adsorption anzunehmen, denn je nach der Festigkeit der Bindung, je nach der Natur der Grenzfläche, je nach der Aufladung, die sie durch das Adsorbendum erfährt, werden auch solche Vorgänge zu bestimmten nur besonderen Körpergruppen eigentümlichen Wirkungen führen können. Und ebensowenig ist drittens die Festigkeit der Bindung ein Gegenstand gegen eine Adsorption. Es lassen sich genug Erfahrungstatsachen anführen, daß derartige Verbindungen[147]) anderen chemischen Zusammensetzungen in keiner Weise nachzustehen brauchen und auch gegen den letzten Beweis muß ich Bedenken äußern. Es ist zwar zuzugeben, daß die Temperaturkoëffizienten bei Adsorptionsverbindungen am allgemeinen unter 1 liegen, aber es gibt einerseits Ausnahmen und gerade bei Adsorptionen an der Phasengrenze festflüssig sind solche beobachtet worden[44]) und andererseits ist bei den

[147]) Michaelis, L. u. P. Rona: Biochem. Z. **97**, 57 (1919).

Versuchen Fischers zu beachten, daß Fixations- und Wirkungsphase sich zeitlich überschneiden. Bei der Messung des Gesamtvorganges wäre also eigentlich eine teilweise Superposition zu erwarten gewesen, die nicht zur Beobachtung kam, und bei dem Temperaturkoëffizienten der ersten Phase ist zu berücksichtigen, daß hier der Einfluß der zweiten Reaktion schon in die Werte eingeht.

Man wird vorläufig also wohl an der Vorstellung eines Adsorptionsvorganges festhalten dürfen. Unterscheiden wir auch weiterhin mit Trendelenburg[137]) und von Weizsäcker[148]) zwei Phasen bei der Digitaliswirkung, deren erste dem Adsorptionsvorgang entspricht, dann stellen sich die Verhältnisse nach unseren Versuchen folgendermaßen dar: Am normalen Herzen ist die für eine optimale Tätigkeit notwendige Ladung und Abdichtung gewisser Grenzflächen der Gewebskolloide durch den Komplexkalk gewährleistet. Die Fixation von Strophanthin in therapeutischen Gaben bedeutet daher nichts anderes, als daß durch Austauschadsorption ein Körper durch einen anderen mit gleichsinniger Wirkung ersetzt wird, wodurch die Organtätigkeit keine Förderung erfährt. Ganz anders am kranken Herzen. Hier kommt es nach Kutschera-Aichbergen[149]) zu einer Kalkverarmung des Muskels. Durch CO_2-Überladung des Blutes, durch Ansammlung saurer Stoffwechselschlacken im überlasteten Herzen wird eine Säuerung eintreten, die den sowieso locker haftenden Komplex aus seinen Bindungen löst und damit werden die Grenzflächen Veränderungen erleiden, die die Herztätigkeit schwächen. Wird hier Digitalis gegeben, so kann es dank seiner größeren Haftfestigkeit den verlorengegangenen Komplex ersetzen, und die Grenzflächen werden ihre alte Dichtung wiedererlangen, was zur Erholung führt. Wird Digitalis aber in toxischen Gaben gegeben, so werden die Membranen dermaßen abgedichtet, daß gewisse Schwankungen der Durchlässigkeit, wie sie für normale Organtätigkeit unerläßlich zu sein scheinen, unmöglich werden. Die chemischen Reaktionen, die die zweite Phase der Digitaliswirkung charakterisieren, werden jetzt ungehemmt ablaufen, und sie werden schließlich den systolischen Stillstand herbeiführen.

Zusammenfassung.

1. Im Hinblick auf neue Arbeiten über den Blutkalk wird die Ansicht vertreten, daß im Herzen genau wie in allen Körperflüssigkeiten zwei Zustandsformen des Kalkes zu unterscheiden sind: 1. Ionen und 2. eine Komplexverbindung, welche teils frei gelöst, teils an Eiweiß gebunden vorkommt. Es wird die Frage aufgeworfen, welche von diesen beiden Zustandsformen für die Herzwirkung des Kalkes verantwortlich zu machen ist.

---

[148]) Weizsäcker, V.: Arch. f. exper. Path. **72**, 347 (1913).
[149]) Kutschera-Aichbergen, H.: Verh. d. D. Ges. f. Inn. Med. **1928**, S. 415.

2. Es wird nachgewiesen, daß einfache Kalkversuche mit Zusatz oder Entzug des Ions zur Entscheidung dieser Frage nicht geeignet sind, da nach dem Massenwirkungsgesetz zwischen Ion und Komplex eine Gleichgewichtsbeziehung besteht, welche im vorliegenden Falle beide Zustandsformen gleichsinnig verändert.

3. Wird nicht der Kalk selbst verändert, sondern die Begleitionen, die am Aufbau der Komplexverbindung beteiligt sind, so ist nach den Dissoziationsgesetzen eine ungleichsinnige Verschiebung anzunehmen. Die vorliegende Arbeit hat demgemäß die Prüfung der Begleitionen zum Ziele.

I. Kalk und Phosphat.

4. Die Natur der Begleitionen wird erörtert. Auf Grund der Chemie des Blutkomplexes sowie auf Grund der Physiologie des Kalkstoffwechsels wird die Gegenwart von Phosphat- und Fettsäureionen im Komplex angenommen.

5. Das kombinatorische Verhalten dieser beiden Ionen gegen Kalk wird besprochen. Aus eigenen Versuchen am Froschherz ergibt sich, das Phosphat nicht nur bei Kalkmangel, sondern unter besonderen Bedingungen selbst bei Kalküberschuß noch die Kalkwirkung steigert. Ähnliches gilt nach Clark für höhere Fettsäuren, trotz kalkfällender Eigenschaften im Reagensglas zeigen die beiden Anionen am Herzen demnach keine hemmende, sondern sogar eine kalkverstärkende Wirkung.

6. Da diese kombinatorische Verstärkung schon unter Bedingungen auftritt, wo die Bildung von kolloidem Kalk unwahrscheinlich ist, so wird daraus der Schluß gezogen, daß die Kalkwirkung auf Herz weder auf das Ion noch auf kolloiden phosphorsauren Kalk zu beziehen ist, sondern auf die Fraktion der löslichen Komplexverbindungen, und es wird in dem Ergebnis gleichzeitig eine weitere Stütze dafür gesehen, daß die beiden fraglichen Anionen tatsächlich im Komplex zugegen sind.

II. Kalk und Strophanthin.

7. Anschließend wird die Verwandtschaft zwischen Kalk und Digitalis behandelt, und zwar wird der Kalkstoffwechsel des überlebenden Schildkrötenherzens unter der Einwirkung von Strophanthin untersucht.

8. Die Versuche ergeben, daß unter dem Einfluß des Strophantins das Herz gewisse Kalkmengen in die Außenflüssigkeit abgibt, daß also Verschiebungen zwischen den drei Herzkalkfraktionen vor sich gehen.

9. Diese Verschiebungen werden nicht auf eine Ionisierung des Herzkalkes bezogen, auf Grund theoretischer Erwägungen und auf Grund von Ausfrierversuchen am Serum wird vielmehr eine adsorptive Verdrängung des Komplexkalkes angenommen.

10. Eine Gleichsetzung von Digitalis- und Ionenwirkung läßt die gefundene adsorptive Verdrängung nicht zu. Dagegen spricht vieles

dafür, daß die Verwandtschaft auf den Komplex selbst zu beziehen ist, und zwar wird die Digitaliswirkung als eine Eigenwirkung aufgefaßt, die der des Komplexes weitgehend gleicht.

11. Die am kranken Herzen besonders deutliche Digitaliswirkung wird damit zu erklären versucht, daß hier Digitalis im Komplex einen verlorengegangenen Baustein ersetzt, während am gesunden Herzen nur ein Bestandteil gegen einen anderen ausgetauscht wird.

Eduard Klinz Buchdruck-Werkstätten Halle (Saale), Dölauer Str. 14
Spezialdruckerei für wissenschaftliche Werke und Dissertationen